

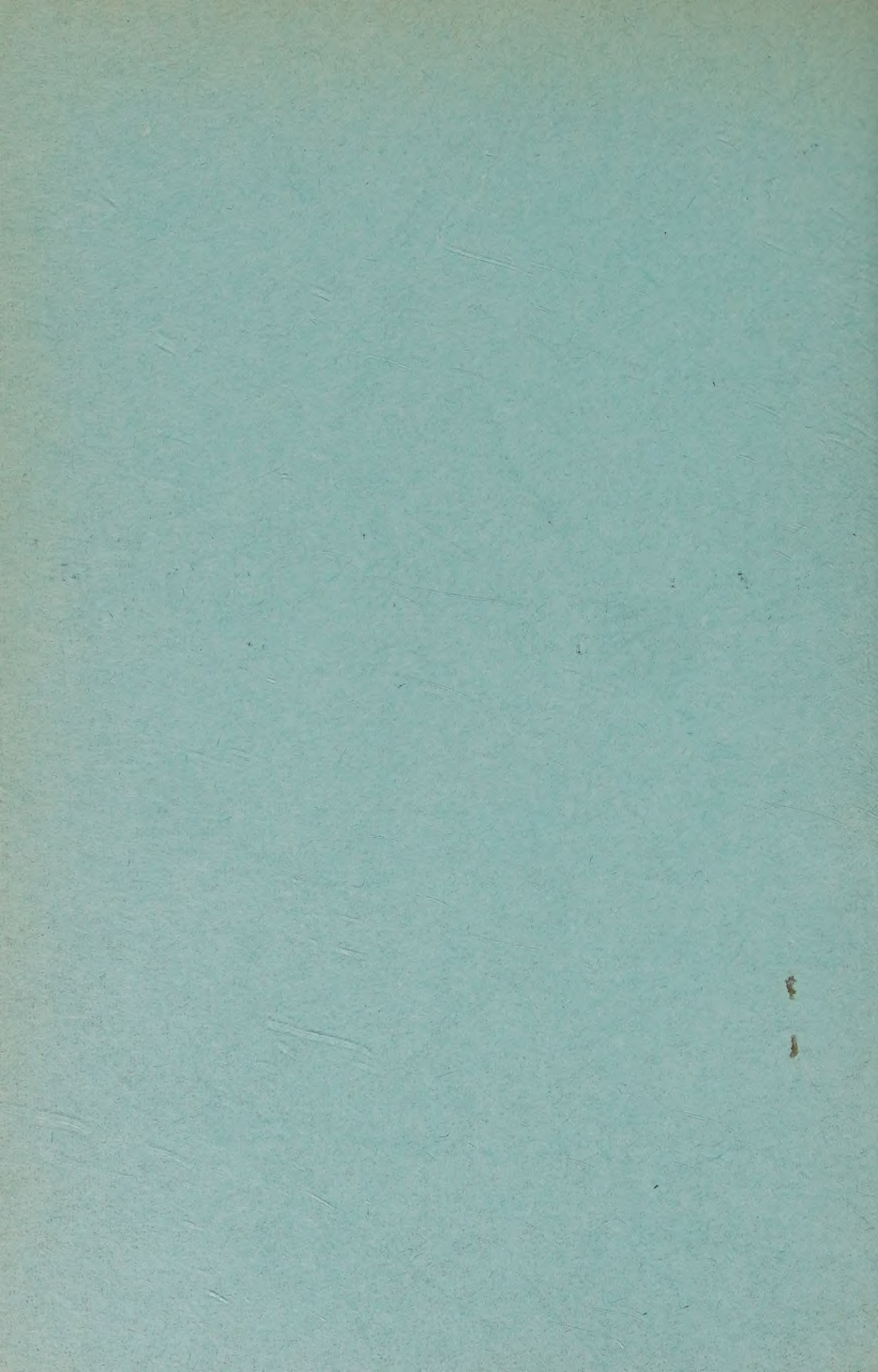
Aus dem Pharmakologischen Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**DER EINFLUSS VON CALCIUM-ENTZUG UND METHACHOLIN AUF
DIE FREISETZUNG DES „FALSCHEN“ TRANSMITTERS α -METHYL-
ADRENALIN UND ENDOGENEM NORADRENALIN AUS DEM ISO-
LIERTEN KANINCHENHERZEN DURCH TYRAMIN UND KALIUM.**

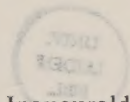
Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

1976

vorgelegt von
REINHARD WEGWART
aus Bernburg
Mainz 1974



**DER EINFLUSS VON CALCIUM-ENTZUG UND METHACHOLIN AUF
DIE FREISETZUNG DES „FALSCHEN“ TRANSMITTERS α -METHYL-
ADRENALIN UND ENDOGENEM NORADRENALIN AUS DEM ISO-
LIERTEN KANINCHENHERZEN DURCH TYRAMIN UND KALIUM.**



Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
REINHARD WEGWART
aus Bernburg
Mainz 1974

Fachbereichsdekan: Prof. Dr. P. Klein

Referent: Prof. Dr. E. Muscholl

Korreferent: Prof. Dr. K. Löffelholz

Tag der mündl. Prüfung: 25. 2. 1976



I. Vorwort

5

II. Einleitung

7

1. Aufgabe und Zielsetzung der Untersuchung

8

2. Bedeutung der Untersuchung für die Praxis

9

3. Aufbau und Gliederung der Arbeit

10

4. Methodische Vorgehensweise und Darstellung

11

5. Zusammenfassung

12

6. Literaturverzeichnis

13

III. Hauptteil

14

1. Beschreibung der Stichprobe

15

2. Ergebnisse der Untersuchung

16

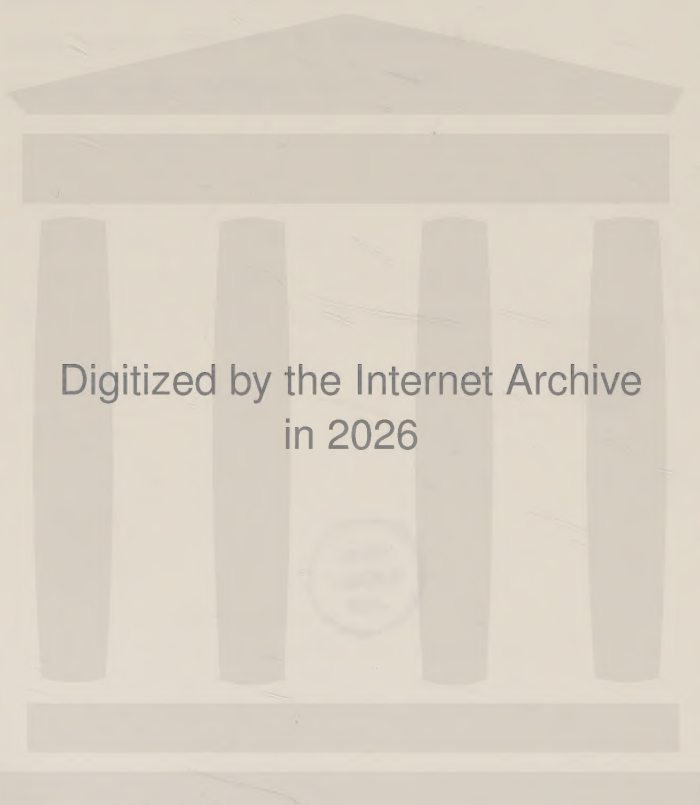
3. Diskussion der Ergebnisse

17

4. Zusammenfassung und Ausblick

18

Meinen Eltern
in Dankbarkeit
gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

Seite

A. Einleitung	1
---------------	---

B. Methoden

1. Narkose und Präparation der Versuchstiere; Infusion von α -Methyladrenalin.	4
2. Perfusion der mit α -Methyladrenalin vorbe- handelten, isolierten Kaninchenherzen.	6
3. Registrierungen während der Infusion von α -Methyladrenalin und Perfusion der iso- lierten Kaninchenherzen.	9
4. Bestimmung von Noradrenalin und α -Methyl- adrenalin in den Perfusaten und Herzen.	11
5. Statistische Methoden	13
6. Substanzen	14

C. Versuchsergebnisse

1. Wirkung einer Infusion von Dihydroxy- ephedrin auf Blutdruck und Herzfrequenz der Kaninchen.	15
2. Wirkung von Tyramin und Kalium-reicher Tyrodelösung auf die Freisetzung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin.	18
3. Einfluß von Calcium-Entzug, Methacholin und Atropin auf die Katecholaminfrei- setzung durch Tyramin.	22
4. Einfluß von Calcium-Entzug, Methacholin und Atropin auf die Transmitterfrei- setzung durch Kalium-reiche Tyrodelösung.	24

5. Wirkung von Calcium-Entzug, Methacholin und Atropin auf den Koronarperfusionsdruck, die Spannungsentwicklung und Schlagfrequenz des Kaninchenherzens.	29
6. Amingehalt der Herzen nach Beendigung der Perfusionen.	43
D. Diskussion	45
E. Zusammenfassung	53
F. Literatur	55
Lebenslauf	

A. Einleitung

Frühere Untersuchungen (Lindmar, Löffelholz und Muscholl, 1968) zeigten, daß muskarinartige Rezeptoren an den terminalen sympathischen Nervenfasern des Kaninchenherzens vorhanden sind. Obwohl exzitatorische und inhibitorische Atropin-empfindliche Stellen an der somadendritischen Membran des Ganglion cervicale superius beim Kaninchen gefunden worden waren (Eccles und Libet, 1961; Libet, 1967; Kosterlitz, Lees und Wallis, 1968; Libet und Tosaka, 1969), kam der Nachweis derartiger Rezeptoren an peripheren adrenergen Nervenfasern überraschend. Muskarinartige Substanzen mit Angriffspunkt an diesen Rezeptoren verhindern die Freisetzung von Noradrenalin durch nikotinartige Substanzen (Lindmar, Löffelholz und Muscholl, 1968) und durch sympathische Nervenreizung (Löffelholz und Muscholl, 1969). Nachforschungen von Fozard und Muscholl (1972) führten zur weiteren Charakterisierung der Rezeptoren als eindeutig muskarinartig. Neueste Arbeiten hatten zum Ziel, den Einfluß von Calcium-Entzug und Methacholin auf die Katecholaminfreisetzung zu untersuchen, die durch sympathische Nervenreizung und durch die nikotinartige Substanz p-Aminophenäthyltrimethylammonium (PAPETA) erzielt wurde (Dissertationsarbeit von H. Fuder aus dem Pharmakologischen Institut Mainz).

Die vorliegende Arbeit hat zur Aufgabe, die Beziehung zwischen muskarinischer Hemmung und der Abhängigkeit von Calcium bei der Katecholaminausschüttung aus terminalen adrenergen Nervenfasern

zu prüfen. Die untersuchten Amine sind endogenes Noradrenalin und α -Methyladrenalin (Dihydroxyephedrin). Letzteres wird mit Hilfe einer intravenösen Infusion in die Aminspeicher inkorporiert und verhält sich dann wie ein "falscher" Überträgerstoff, der den von Kopin (1968) aufgestellten Kriterien zur Klassifizierung einer adrenergen "falschen" Überträgersubstanz genügt. Die Freisetzung des "falschen" Transmitters durch sympathische Nervenreizung sowie durch Substanzen, die auch Noradrenalin freisetzen, sind gewährleistet, wie frühere Arbeiten mit diesem Amin zeigen (Muscholl, 1966; Muscholl und Sprenger, 1966; Lindmar, Muscholl und Sprenger, 1967). α -Methyladrenalin wurde in dieser Arbeit vor allem deswegen verwendet, weil seine Aufnahme in die Aminspeicher des Herzens und seine Freisetzung in ausreichendem Maße erfolgen; außerdem ist seine Bestimmung in den Perfusaten und Herzextrakten durch eine relativ einfache Methode möglich. Die Aminabgabe wurde durch das biogene, indirekt sympathomimetisch wirkende Amin Tyramin und durch Kaliumionen in hoher Konzentration erzielt. Die Wahl von Tyramin beruhte auf der Überlegung, daß durch dieses biogene Amin eine ausreichende Freisetzung von α -Methyladrenalin aus dem isolierten Herzen zu erwarten war (Lindmar, Muscholl und Sprenger, 1967). Die zur Stimulation der Transmitterabgabe verwendete Kaliumkonzentration wurde in Vorversuchen ausgetestet. Methacholin diente als muskarinartiger Inhibitor der Aminfreisetzung, da es in Untersuchungen von Fozard und Muscholl (1972) über den Einfluß von neun muskarinartig wirkenden Substanzen auf die Herztätigkeit und die Noradrenalinausschüttung zu den wirksamsten Substanzen gehörte.

In der vorliegenden Arbeit wird auch der Einfluß von Atropin auf die Methacholinwirkung geprüft. Ferner wird die funktionelle Bedeutung der Katecholaminfreisetzung durch Tyramin und Kaliumionen am Herzen untersucht und die Abhängigkeit des Koronarperfusionsdruckes von den zur Perfusion verwendeten Substanzen dargestellt.

B. Methoden

1. Narkose und Präparation der Versuchstiere; Infusion von α -Methyladrenalin.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen von 1,66 - 2,22 kg Körpergewicht. Die Tiere wurden durch Injektion von 30 mg/kg Körpergewicht Pentobarbital-Natrium in die marginale Ohrvene narkotisiert. Anschließend wurde die Narkose für etwa zwei Stunden durch Äther aufrechterhalten, wobei die Äthergaben so dosiert wurden, daß vegetative Reflexmechanismen (Abwehrreflex, Cornealreflex) gerade unterdrückt waren und besonders ein reflektorischer Atemstillstand oder starke Blutdruckschwankungen vermieden wurden.

War die nötige Narkosetiefe erreicht, begann die Präparation der Kaninchen. Als erstes wurde die linke Arteria carotis freigelegt. Am Hals des Tieres wurde nach einem medianen Hautschnitt die darunterliegende Faszie mit der oberflächlichen Halsmuskulatur stumpf durchtrennt, und die Arterie seitlich der Trachea, etwas unterhalb des Ringknorpels aufgesucht. Das Gefäß wurde von dem begleitenden Nervus vagus und sympathicus auf einer Strecke von etwa 2 cm befreit; ebenso wurde das perivaskuläre Bindegewebe von der Arterie stumpf abpräpariert, und das Gefäß durch zwei locker geknüpft Fäden in seiner freien Länge gesichert. Danach wurde die linke Vena femoralis freigelegt. Nach Durchtrennung der Hautschichten in der Leistenbeuge wurde durch

stumpfes Lösen der Faszien und des Bindegewebes die Vene in der Tiefe sichtbar. Die sie begleitenden Arteria und Nervus femoralis wurden zur Seite gedrängt, so daß nach Ablösen des Gefäßbindegewebes die Vene ebenfalls auf einer Strecke von etwa 2 cm freilag. Auch sie wurde durch zwei etwas dünnere Fäden lose fixiert. Ein erschwerender Faktor bei dieser Präparation war die starke Schleimsekretion des Respirationstrakts der Versuchstiere. Dieser konnte man nicht durch die sonst für eine Anästhesie übliche Gabe von Atropin entgegenwirken, da Atropin die Untersuchungen und Ergebnisse verfälscht hätte. Daher mußte man sich mit Absaugen des Sekrets, und falls das unzureichend wurde, mit Anlegen einer Trachealkanüle behelfen, um eine ausreichende Atmung der Tiere und dadurch bedingte Oxygenierung des Blutes zu gewährleisten. Diese Maßnahmen beeinflussten jedoch den weiteren Versuchsablauf nicht.

Die Präparation der Versuchstiere benötigte von Narkosebeginn an etwa 60 Minuten. In die linke Vena femoralis wurde nun eine Kanüle eingeführt, und 5000 IE Heparin-sulfat intravenös appliziert, womit eine Thrombenbildung verhindert und das spätere Entbluten der Tiere erleichtert werden sollte. In die auf diese Weise vorbereitete Oberschenkelvene erhielten die Kaninchen für 20 Minuten eine Dauerinfusion von $85 \mu\text{g}/\text{kg}$ und min Dihydroxyephedrin (α - Methyladrenalin). Die entsprechend dem Körpergewicht der Versuchstiere benötigte Menge an Dihydroxyephedrin wurde in physiologischer NaCl-Lösung verabreicht, der $35 \mu\text{g}/\text{ml}$ Ascorbinsäure zugesetzt wurden. Vor dem Anlegen der Infusion wurde in die linke Arteria carotis eine mit physiologischer Kochsalzlö-

sung luftblasenfrei gefüllte Kanüle eingelegt, um den Blutdruckverlauf und die Herzfrequenz der Tiere während der Dauerinfusion zu registrieren. Einzelheiten darüber werden in einem späteren Abschnitt dieser Arbeit mitgeteilt.

2. Perfusion der mit α -Methyladrenalin vorbehandelten, isolierten Kaninchenherzen.

15 Minuten nach Beendigung der Infusion wurden die Versuchstiere durch Öffnen der Karotiden in Äthernarkose entblutet, und die Herzen isoliert. In den Anfangsteil der Aorta wurde eine Aortankanüle eingebunden, und die Kaninchenherzen nach der Langendorff-Technik perfundiert. Eine in die Perfusionsapparatur eingeschaltete Schlauchpumpe (Desaga) hielt das durch die Koronarien beförderte Flüssigkeitsvolumen konstant auf 20 ml/min. Die zur Perfusion verwendete Tyrodelösung hatte die der Tabelle 1 zu entnehmende Zusammensetzung. Die Nährlösung wurde außerdem mit Carbogen, einem Gemisch von 95 % Sauerstoff und 5 % Kohlendioxid, begast. Ein Thermostat hielt die Temperatur der Lösung auf $35 \pm 1^{\circ} \text{C}$; der pH-Wert betrug 7,4.

Die Herzen wurden etwa 20 Minuten mit Tyrodelösung perfundiert, währenddessen die unten ausführlich beschriebene Fixierung der Herzen nach einer Modifikation der Transversalmethode stattfand. Danach begann die für jede Versuchsgruppe eigene Perfusionsreihe. Die vorgenommenen experimentellen Untersuchungen lassen sich in folgende vier Perfusionsgruppen unterteilen: a. Kontrollversuche, b. Calcium-arme Tyrodelösung, c. Methacholin, d. Atropin + Methacholin. Bei der weiteren Darstellung und Erörterung der Versuche

wird diese Gruppeneinteilung beibehalten, deren jeweilige Benennung der Charakterisierung und schnellen Orientierung über eine Versuchsreihe dienen soll. Desweiteren wurde innerhalb einer Versuchsgruppe die Transmitterfreisetzung während einer Perfusionsserie durch zwei verschiedene Stimuli erzielt und getestet, nämlich durch das indirekt sympathomimetisch wirkende Tyramin und durch Kaliumionen in hoher Konzentration. Tyramin wurde in einer Konzentration von 5,4 µg/ml der Tyrodelösung zugesetzt, die Kaliumreiche Tyrodelösung beinhaltetete 54 mÄq/l K^+ und 17 mÄq/l Na^+ . Zur Aufrechterhaltung der Isotonie der Lösung wurde 43,8 g/l Saccharose hinzugefügt. Die übrigen Bestandteile sind in der Tabelle 1 aufgeführt, die außerdem die Zusammensetzung der Calcium-armen

Tab. 1

Zusammensetzung der verschiedenen für die Perfusion der isolierten Kaninchenherzen verwendeten Tyrodelösungen. Aufgeführt sind die Konzentrationen in g/l.

<u>Bestandteil</u>	<u>Tyrodelösung</u>	<u>K^+-reiche Tyr.</u>	<u>Ca^{++}-arme Tyr.</u>
NaCl	8,0	0,275	8,0
KCl	0,2	4,0	0,2
$CaCl_2$	0,2	0,2	0,0125
$MgCl_2$	0,1	0,1	0,1
$NaHCO_3$	1,0	1,0	1,0
NaH_2PO_4	0,05	0,05	0,05
Glukose	1,0	1,0	1,0
Saccharose	---	43,8	---
Ascorbinsäure	0,01	0,01	0,01
Aqua dest.	ad 1000 ml	ad 1000 ml	ad 1000 ml

Tyrodelösung angibt, mit der die oben unter Versuchsgruppe b angegebenen Perfusionen der isolierten Kaninchenherzen erfolgten.

Der Ablauf der Koronarperfusionen der jeweiligen Versuchsreihe soll nun im Einzelnen näher erläutert werden. Zu Beginn wurde das Perfusat der mit einfacher Tyrodelösung durchströmten Herzen 7 Minuten aufgefangen, um die Spontanfreisetzung von Noradrenalin und dem "falschen" Überträgerstoff α -Methyladrenalin zu ermitteln.

Bei den Kontrollversuchen (a) wurden dann die Koronarien dreimal in Intervallen von 15 Minuten mit Tyramin-haltiger Tyrodelösung jeweils 5 Minuten lang perfundiert, wobei am Ende eines jeden Perfusionseffekts mit Tyramin das Herz noch 1 Minute mit Tyrodelösung durchströmt wurde. Die drei auf diese Weise gewonnenen Perfusate, die wie die übrigen durch Vorlegen von 1 ml 1 n H_2SO_4 auf pH 3 eingestellt waren, enthielten also aufgrund der konstanten Pumpleistung von 20 ml/min jeweils 121 ml Flüssigkeit. Die drei folgenden Perfusionsperioden mit Kalium-reicher Tyrodelösung erfolgten in Intervallen von gleichfalls 15 Minuten, wobei jeder Kaliumreiz nur 4 Minuten gesetzt und danach 2 Minuten mit Tyrodelösung ausgewaschen wurde.

Die Reizeffekte der drei übrigen Versuchsgruppen (b, c, d) verliefen analog. Der jeweils zweite Effekt der Tyramin- bzw. Kalium-Stimulation der Katecholaminfreisetzung wurde insoweit verändert, daß der das stimulierende Agens enthaltenden Tyrodelösung Calcium entzogen (Reduzierung der Calcium-Konzentration auf 0,2 mÄq/l), Methacholin (4×10^{-5} M) oder Atropin ($1,44 \times 10^{-6}$ M) zugesetzt

wurden. Vor der Perfusion der Herzen mit der entsprechend veränderten Tyrodelösung wurde mit der modifizierten Lösung ohne freisetzendes Agens vorperfundiert. Diese Vorperfusion erfolgte mit Calcium-armer Tyrodelösung 7 Minuten, mit Methacholin 3 Minuten lang. Bei der Versuchsgruppe "Atropin + Methacholin" (d) wurde Atropin 8 Minuten vor dem ersten Tyramin- oder Kaliumeffekt der Tyrodelösung hinzugefügt, und die Herzen bis zum Versuchsende mit dieser Lösung durchströmt. Auch hierbei wurde Methacholin 3 Minuten vor der zweiten Perfusionsperiode zugesetzt.

3. Registrierungen während der Infusion von α -Methyladrenalin und Perfusion der isolierten Kaninchenherzen.

Während der 20 minütigen Dauerinfusion von α -Methyladrenalin in die linke Vena femoralis wurde der Blutdruck in der linken Arteria carotis blutig gemessen. Eine in das Gefäß eingeführte Kanüle übertrug die Schwankungen des Blutdrucks auf einen Druckaufnehmer (Statham), dessen Impulse von einem Hellige-Direktschreiber HE 19 aufgenommen und kontinuierlich registriert wurden. Die Schwankungen der Blutdruckamplitude dienten gleichzeitig als Eingangssignal für einen Pulsfrequenzschreiber, dessen Aufzeichnungen allerdings wegen der geringen Empfindlichkeit des Geräts nicht immer dem wahren Frequenzverlauf entsprachen. Der Schreiber registrierte die Herzfrequenz der Versuchstiere nur dann richtig, wenn die aufgenommene Blutdruckamplitude genügend groß war. Dieser Mangel wurde jedoch deshalb nicht beseitigt, da der Einfluß von Dihydroxyephedrin auf die Pulsfrequenz in dieser Arbeit von geringem Interesse war. Aufgrund der Überwachung eines

zusätzlich angeschlossenen Pulsfrequenzanzeigers (Hellige, Freiburg) war es dennoch möglich, eine Tendenz des Frequenzverlaufs während der Infusion zu ermitteln.

Nach Entbluten der Versuchstiere wurden die isolierten Herzen nach Langendorff perfundiert. In den ersten Minuten der Perfusion wurden die Herzen, wie bereits kurz erwähnt, nach der von Beckett (1970) beschriebenen und von Pozard und Muscholl (1971) modifizierten Transversal-Methode fixiert. Diese erlaubte eine getrennte Registrierung der Spannungsentwicklung von Vorhof und Herzkammer. Während der Perfusion der Koronarien sollten die systolische Spannungsentwicklung des rechten Vorhofes, des rechten Ventrikels und die Schlagfrequenz des Herzens ermittelt werden. Die isolierten Herzen wurden zur Sicherung und zur Vermeidung einer Rotation durch zwei Fäden, die durch die Wand des Ventrikelseptums gezogen waren, zur rückwärtigen Seite hin befestigt. Um die Spannungsentwicklung des rechten Vorhofs darstellen zu können, wurde ein weiterer Faden durch das Muskelgewebe am Ansatz des rechten Herzohres gezogen und mit einem mechano-elektrischen Wandler (Grass, FT. 03) verbunden. Das rechte Atrium erhielt eine diastolische Vorspannung von 0,8 g. Das obere Drittel der rechten Ventrikelwand stand durch einen vierten Faden mit einem zweiten Wandler (Grass, FT. 03) in Verbindung, der die isometrische Spannungsentwicklung der rechten Kammer aufnahm, die eine diastolische Vorspannung von 5 g erhielt. Die beiden mechano-elektrischen Wandler leiteten die Impulse über zwei Kanäle einem Hellige-Direktschreiber HE 19 zu, der die Spannungsentwicklung fortlaufend aufzeichnete. Ein dritter Kanal erlaubte

die Registrierung der Schlagfrequenz über einen Pulsfrequenzanzeiger (Hellige, Freiburg), der über die Schwankungen der Kammerspannungsentwicklung getriggert war.

Während der Perfusion der Herzen wurde das durch die Koronarien geförderte Volumen durch eine vorgeschaltete Schlauchpumpe konstant gehalten. Dieses Verfahren ermöglichte die Aufzeichnung des Koronarperfusionsdruckes. Der Druck wurde nahe der Aortenkanüle mit einem Druckaufnehmer (Statham) und einem Rikadenki-Direktschreiber (Modell B-104) fortlaufend registriert. Es wurde der mittlere Koronarperfusionsdruck aufgezeichnet.

4. Bestimmung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin in den Perfusaten und Herzen.

Unmittelbar nach Beendigung einer Perfusionsreihe wurde das Herzgewicht bestimmt, und das Herz mit einem "Ultra-Turrax"-Homogenisator in 50 ml eiskalter 5 % Trichloressigsäure homogenisiert. Nach zweimaligem Zentrifugieren und erneuter Extraktion in 5 % TCA wurden die Überstände vereinigt und als Herzextrakt verwendet. Das in den Extrakten und Perfusaten, die in oben beschriebener Weise gewonnen waren, enthaltene Noradrenalin und α -Methyladrenalin wurde nach der früher dargestellten Methode (Euler und Orwén, 1955; Lindmar und Muscholl, 1964) bei pH 8,8 an Aluminium adsorbiert und anschließend mit 0,5 n H_2SO_4 eluiert. Danach erfolgte die differentiafluorometrische Bestimmung der Amine nach der von Muscholl (1966) beschriebenen Modifikation der Trihydroxyindolmethode. Die Messung der Aminkonzentration erfolgte in einem Zeiß-Spektralfluorometer bei

520 nm durch Anregung bei 390 nm und 436 nm. Bei der fluorometrischen Bestimmung wurden innere Standards von Noradrenalin und α -Methyladrenalin verwendet. Weitere Einzelheiten der Bestimmungsmethodik sind der angeführten Literatur zu entnehmen. Zur Überprüfung der Methode wurden insgesamt 14 Ausbeuteproben bestimmt, und zwar jeweils 5 in Tyrodelösung bzw. Tyraminhaltiger Tyrodelösung und 4 Proben in Kalium-reicher Tyrodelösung. Hierzu wurden je 500 ng von beiden Aminen zu 100 ml Lösung zugesetzt. Diese differenzierte Überprüfung sollte eventuelle Interferenzen bei der Katecholaminbestimmung, die durch die unterschiedliche Zusammensetzung der Tyrodelösungen bedingt sein konnten, ausschließen oder ermitteln. Die Ergebnisse der Ausbeutebestimmungen (in Prozent der eingesetzten Mengen) sind der folgenden Übersicht zu entnehmen.

	Tyrodelösung	Tyramin-Tyr.	K ⁺ -reiche Tyr.
NA	66,7 $\pm$ 4,75 %	57,0 $\pm$ 2,61 %	59,6 $\pm$ 3,99 %
DHE	64,1 $\pm$ 3,76 %	54,6 $\pm$ 6,59 %	60,1 $\pm$ 4,13 %

Angegeben ist der Mittelwert $\pm$ einmal dem mittleren Fehler des Mittelwertes; die Zahl der Einzelbestimmungen ist im Text angeführt; NA = Noradrenalin, DHE = Dihydroxyephedrin = α -Methyladrenalin.

Die in den Herzextrakten und Perfusaten gefundenen Ergebnisse für Noradrenalin und α -Methyladrenalin wurden nicht auf die Größe der Ausbeuten korrigiert.

5. Statistische Methoden

Sämtliche Ergebnisse wurden als Mittelwert ($\bar{x}$) $\pm$ einmal dem mittleren Fehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) angegeben. Mittelwertsvergleiche wurden mit dem Student's t - Test (Snedecor, 1950) durchgeführt. n stellt die Anzahl der Einzelwerte dar. Um zu zeigen, daß sich die einzelnen Versuchsgruppen nur in dem jeweils zu untersuchenden Faktor von einander unterscheiden, wurden Mittelwertsvergleiche mit dem t - Test auch zwischen den ersten, gleichartig erzielten Effekten der Versuchsreihen durchgeführt.

Die Frage, ob sich die Zunahme des Koronarperfusionsdruckes nach 1 min während der 54 mÄq/l Kalium-Perfusion innerhalb der vier Versuchsgruppen a. Kontrollen, b. Calcium-arme Tyrodelösung, c. Methacholin und d. Methacholin + Atropin signifikant unterscheidet, wurde mit Hilfe einer einfachen Varianzanalyse gelöst. Eine dreifach partiell hierarchische Varianzanalyse (Snedecor, 1950; Morrison, 1967) wurde zur Klärung der Fragestellung herangezogen, ob die Erholungszeiten der Herzen nach der durch die Kalium-Perfusion bedingten Asystolie zwischen den vier Versuchsgruppen signifikante Unterschiede aufweisen und ob sich dabei Unterschiede zwischen rechtem Vorhof und rechter Kammer zeigen. Als Variationsursachen kommen in Frage: Die Unterschiede zwischen den Behandlungen (Perfusion von Calcium-armer Tyrodelösung, Methacholin, Methacholin + Atropin zu Kontrollen), zwischen den Herzen und zwischen den Herzanteilen (Rechter Vorhof, rechte Kammer) innerhalb der Behandlung. Für den Signifikanztest wurde

die berechnete Prüfgröße F, ein Streuvergleich, der durch die Division zweier Streugrößen (Mittleres Abweichungsquadrat MAQ) gewonnen wird, mit dem bei 5 % bzw. 1 % Überschreitungswahrscheinlichkeit signifikanten Tabellenwert verglichen.

6. Substanzen

Es wurden verwendet:

- a. Nembutal^R = Pentobarbital-Natrium (C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim)
- b. Vetren^R (für veterinärmed. Zwecke) = Heparin-sulfat (Promonta, Hamburg)
- c. (+)-3,4-Dihydroxyephedrin-HCl = α -Methyladrenalin-HCl (C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim)
- d. Tyramin-HCl (C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim)
- e. Methacholin-chlorid (Schuchard, München)
- f. Atropin-sulfat (C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim)
- g. (-)-Noradrenalin-Base (Farbwerke Hoechst, Frankfurt-Hoechst)

Die in der Arbeit angegebenen Konzentrationen und Dosen der Brenzkatechinamine sowie von Tyramin sind auf die Basen, die von Pentobarbital-Natrium auf das Natriumsalz bezogen. Die Konzentrationen von Atropin und Methacholin sind in Mol/l angegeben.

C. Versuchsergebnisse

1. Wirkung einer Infusion von Dihydroxyephedrin auf Blutdruck und Herzfrequenz der Kaninchen.

Die Kaninchen erhielten in Pentobarbital + Äther-Narkose 20 Minuten lang eine Infusion von $85 \mu\text{g/kg}$ u. min Dihydroxyephedrin (X-Methyladrenalin) intravenös. Unmittelbar nach Beginn der Infusion fiel der Blutdruck der narkotisierten Tiere kurzfristig ab, um danach steil anzusteigen. Der kurzzeitige Abfall des Druckes ist entsprechend früheren Untersuchungen von Muscholl und Sprenger (1966) auf die zu Infusionsbeginn kleine Konzentration von Dihydroxyephedrin im Versuchstier zurückzuführen, da diese Substanz in niedrigen Konzentrationen eine depressorische Wirkung besitzt. Mit zunehmender Infusionsdauer und dem damit verbundenen Konzentrationsanstieg von Dihydroxyephedrin im Tier kam es aufgrund der nunmehr einsetzenden pressorischen Wirkung zum Blutdruckanstieg. Der mittlere arterielle Blutdruck hatte nach 2 Minuten mit einer Zunahme von $20,3 \pm 4,4$ mm Hg gegenüber dem Ausgangswert von $103,5 \pm 3,1$ mm Hg vor Infusionsbeginn sein Maximum erreicht. Dieser Wert entspricht einer Drucksteigerung von etwa 20 %. Im weiteren Verlauf der Infusion kam es dann zu einem gleichmäßigen Rückgang des arteriellen Blutdruckes. Nach 10 Minuten betrug der Druckanstieg gegenüber dem Ausgangswert noch $19,7 \pm 4,1$ mm Hg, am Ende der Infusion nach 20 Minuten noch $18,1 \pm 3,7$ mm Hg. Unmittelbar nach Absetzen der Infusion fiel der mittlere arterielle Blutdruck unter gleichzeitiger Zunahme der

Druckamplitude ab. Er lag 10 Minuten nach Infusionsende $18,2 \pm 3,2$ mm Hg unter dem Ausgangswert und erreichte auch in den verbleibenden 5 Minuten bis zum Entbluten der Tiere nicht den Wert vor Infusionsbeginn. Zur Veranschaulichung des Blutdruckverlaufs während der Dauerinfusion von Dihydroxyephedrin sei auf Tabelle 2 und Abbildung 1 verwiesen.

Tab. 2

Verlauf des Blutdrucks in der A. carotis während Infusion von Dihydroxyephedrin (X-Methyladrenalin).

BD vor Infusion	Δ BD nach 2 min	Δ BD nach 10 min	Δ BD nach 20 min	Δ BD nach 30 min
$103,5 \pm 3,2$	$20,3 \pm 4,4$	$19,8 \pm 4,1$	$18,1 \pm 3,7$	$-18,3 \pm 3,2$

Der Blutdruck (BD) wurde in der linken A. carotis blutig während einer 20 minütigen Infusion von Dihydroxyephedrin ($85 \mu\text{g/kg u. min}$) gemessen. Die einzelnen Spalten zeigen die Höhe des Blutdrucks unmittelbar vor Infusionsbeginn, die Zunahme des Druckes (Δ BD) nach 2, 10 und 20 Minuten bezogen auf den Ausgangswert. Die letzte Spalte zeigt die Druckdifferenz nach 30 Minuten, also 10 Minuten nach Infusionsende. Alle Angaben in mm Hg; angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ einmal dem mittleren Fehler des Mittelwertes; Anzahl der Messungen = 10.

Wie bereits oben kurz erwähnt, war eine genaue Registrierung der Herzfrequenz der Versuchstiere während der Infusion nicht möglich, da das Registriergerät nur bei genügend großer Blutdruckamplitude, die als Eingangssignal diente, den Frequenzverlauf richtig aufzeichnete. Die sorgfältige Beobachtung eines Pulsfrequenzanzeigers

ergab jedoch für alle überwachten Fälle eine nach etwa 2 Minuten einsetzende Steigerung der Schlagfrequenz um ca. 30/min. Diese Zunahme blieb während der Infusion bis auf kleinere Schwankungen konstant erhalten und kehrte erst einige Minuten nach Absetzen der Infusion zum Ausgangswert zurück.

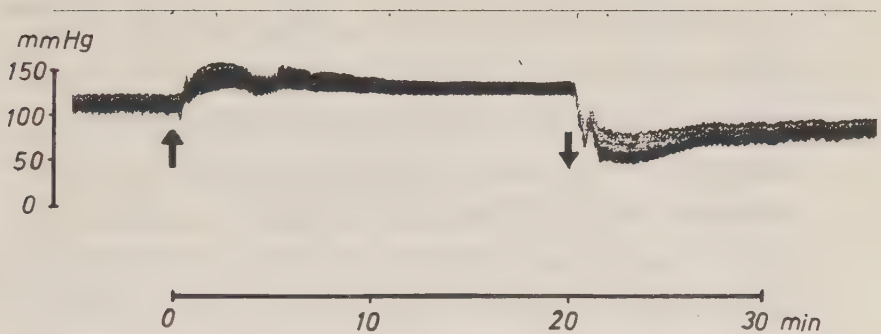


Abb. 1

Wirkung einer Infusion von 85 $\mu\text{g/kg}$ u. min Dihydroxyephedrin auf den Blutdruck des Kaninchens während Pentobarbital + Äther-Narkose. Die Registrierung des Blutdrucks erfolgte blutig in der linken A. carotis.

Linker Maßstab: Blutdruck in mm Hg

Unterer Maßstab: Zeitverlauf der Infusion. Infusionsbeginn bei 0 min; Infusionsende nach 20 min.

2. Wirkung von Tyramin und Kalium-reicher Tyrodelösung auf die Freisetzung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin.

Vor Beginn jeder Perfusionsreihe wurden die Herzen 7 Minuten mit Tyrodelösung durchströmt, um in den auf diese Weise gewonnenen Perfusaten die Spontanfreisetzung von Noradrenalin und dem infundierten "falschen" Überträgerstoff zu ermitteln. Die Spontanabgabe hierbei lag für Noradrenalin bei $-0,3 \pm 0,85$ ng/min, die für α -Methyladrenalin bei $18,5 \pm 3,90$ ng/min ($n = 19$). Dieses zeigt, daß etwa 45 Minuten nach Infusion des "falschen" Transmitters dieser fast ausschließlich an den sympathischen Nervenendigungen des Herzens spontan freigesetzt und in das Perfusat abgegeben wird. Der negative Wert für Noradrenalin findet eine Erklärung in der Art der Bestimmungsmethode des Amingehalts der Perfusate. Bei der Ermittlung des Amingehalts durch eine Differentialbestimmung können bei einem überwiegenden Anteil des einen Amins, hier α -Methyladrenalin, für das andere Amin durchaus negative Werte gefunden werden.

Die mit α -Methyladrenalin vorbehandelten Herzen wurden, wie bereits beschrieben, dreimal in Abständen von 15 Minuten mit Tyramin-haltiger Tyrodelösung perfundiert. Die Tyraminkonzentration betrug $5 \mu\text{g/ml}$, da mit dieser Konzentration nach der früher ermittelten Konzentrationswirkungskurve dieses Amins (Lindmar, Muscholl und Sprenger, 1967) ein Maximum der Katecholaminfreisetzung zu erwarten war. Der Gehalt an Noradrenalin und α -Methyladrenalin in den während der drei Tyramineffekte gesammelten Perfusaten wurde in ng/min ausgedrückt. Die Noradrenalinfreisetzung des zweiten und dritten Effekts wurde nicht prozentual

auf die Abgabe des ersten Effekts bezogen, da dessen geringer Gehalt in den Perfusaten an die Bestimmungsgenauigkeit der Methode ging und deshalb größeren Schwankungen unterlag. Der für α -Methyladrenalin ermittelte Wert des ersten Tyraminreizes in ng/min wurde gleich 100 % gesetzt, die Ergebnisse der zweiten und dritten Stimulation in Prozent der ersten angegeben. Desweiteren wurde jeweils der prozentuale Anteil von α -Methyladrenalin an der Gesamtaminabgabe bestimmt.

Wie aus Abb. 2 (Kontrollen) zu entnehmen ist, war die durch Tyramin hervorgerufene Freisetzung von Noradrenalin für alle drei Perfusionsperioden sehr niedrig und unterlag von Effekt zu Effekt keiner wesentlichen Änderung. Sie betrug $12,0 \pm 6,93$ ng/min, $6,8 \pm 4,12$ ng/min und $14,3 \pm 7,60$ ng/min. Demgegenüber ergab sich eine stufenweise Verringerung der Abgabe von α -Methyladrenalin (Abb. 2). Bezogen auf den Wert der ersten Periode waren im Perfusat des zweiten Effekts noch $60 \pm 3,6$ %, in dem des dritten $47 \pm 9,7$ % des "falschen" Überträgerstoffes enthalten. Der prozentuale Anteil von α -Methyladrenalin an der Gesamtaminfreisetzung war bei allen drei Stimulationen nahezu konstant. Mit $95 \pm 3,0$ %, $93 \pm 2,2$ % und $90 \pm 4,6$ % α -Methyladrenalin-Anteil wurde durch Tyramin, wie es auch schon frühere Untersuchungen ergaben (Muscholl, 1966), hauptsächlich der "falsche" Transmitter freigesetzt.

Anders verhielt sich die Aminabgabe bei Perfusion der isolierten Herzen mit Kalium-reicher Tyrodelösung. Die in den Perfusaten bestimmten Katecholamine sind in Abb. 3 (Kontrollen) schematisch dargestellt. Es zeigte sich, daß durch die Stimulation mit Kalium-

ionen in einer Konzentration von 54 mMq/l eine größere Noradrenalinfreisetzung erzielt wurde als durch Tyramin. Diese lag für Noradrenalin während der ersten Reizung bei $171,4 \pm 41,40$ ng, für die zweite und dritte bei $116,5 \pm 23,60$ ng bzw. $102,5 \pm 18,80$ ng. Die in den Perfusaten ermittelte Menge an α -Methyladrenalin betrug für die drei Effekte $496,9 \pm 56,90$ ng, $270,0 \pm 23,60$ ng und $204,5 \pm 27,30$ ng. Auch bei diesen Untersuchungen verringerte sich von Periode zu Periode die Freisetzung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin. Der prozentuale Anteil des "falschen" Überträgerstoffes an der gesamten Aminabgabe betrug für die drei Perfusionsperioden $76 \pm 3,0$ %, $71 \pm 2,3$ % und $67 \pm 4,5$ %. Eine ähnliche Aminverteilung wurde auch bei der Bestimmung des Katecholamingehalts der Herzen nach Beendigung der Perfusion ermittelt. Hier lag der Prozentanteil des "falschen" Transmitters am Gesamtaminanteil im Herzen bei $66 \pm 1,9$ %.

Legende zu Abb. 2

Abgabe von Noradrenalin (NA) und α -Methyladrenalin (α -MA) in ng/min aus den isolierten Kaninchenherzen während 5 minütiger Tyramin-Perfusion (5 μ g/ml). Dargestellt sind die drei die Aminfreisetzung auslösenden Tyramineffekte (T 1, T 2, T 3; jeweils 15 min Abstand) der Versuchsgruppen "Kontrollen" (n = 6), "Calcium-arme Tyrodelösung" (n = 6), "Methacholin" (n = 6) und "Atropin + Methacholin" (n = 3). Calcium-arme Tyrodelösung: 0,2 mMq/l Ca^{++} 7 min vor und während T 2; Methacholin 4×10^{-5} M 3 min vor und während T 2; Atropin $1,44 \times 10^{-6}$ M 8 min vor T 1 bis nach T 3. Die Säulen repräsentieren die Mittelwerte $\pm$ einmal den mittleren Fehler des Mittelwertes, der jedoch wegen der Übersichtlichkeit bei manchen Säulen nur in einer Richtung gezeichnet ist. Die Querbalken unter dem jeweiligen T 2 sollen den wichtigen Effekt hervorheben.

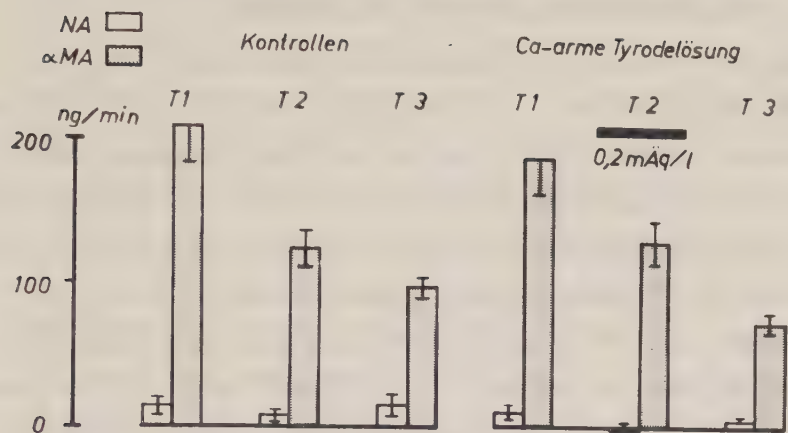


Abb. 2 (Legende siehe Seite 20)

3. Einfluß von Calcium-Entzug, Methacholin und Atropin auf die Katecholaminfreisetzung durch Tyramin.

Bei der Versuchsgruppe "Calcium-arme Tyrodelösung" (b) glichen die Bedingungen des ersten Effekts der Aminfreisetzung denen der Kontrollversuche (a), so daß sich der Gehalt an Katecholaminen in den Perfusaten dieser ersten Periode nicht wesentlich von den Kontrollen unterscheiden durfte. Dieser lag für Noradrenalin bei $10,5 \pm 5,53$ ng/min und für α -Methyladrenalin bei $186,4 \pm 24,3$ ng/min. Beide Werte unterschieden sich nicht von den Kontrollen (belegt durch $p > 0,8$ bzw. $p > 0,5$). Tyramin führte bei gleichzeitigem Calcium-Entzug zu einer Abgabe von $-5,7 \pm 1,76$ ng/min Noradrenalin und $129,5 \pm 14,5$ ng/min α -Methyladrenalin. Dieses Ergebnis für α -Methyladrenalin war gegenüber den Kontrollversuchen nicht signifikant (belegt durch $p > 0,7$). Auffällig war allerdings, daß der Gehalt an Noradrenalin in den Perfusaten im Vergleich zu den Kontrollen signifikant verringert war ($p < 0,02$). Der Grund hierfür könnte allerdings darin zu suchen sein, daß Tyramin nur geringe an die Nachweisgrenze der Methodik gehende Noradrenalinmengen freisetzt, wodurch diesem Befund keine pharmakologische Bedeutung zukommen dürfte. Die Aminabgaben während der dritten Perfusionsperiode entsprachen den Kontrollen. Eine schematische Darstellung dieser Ergebnisse zeigt Abb. 2 (Calcium-arme Tyrodelösung). Die prozentualen Anteile von α -Methyladrenalin an der Gesamtaminabgabe der drei Effekte lagen bei $96 \pm 1,7$ %, 100 % und $93,4 \pm 2,2$ %.

Für die in den Perfusaten des ersten Effekts der Versuchsgruppe "Methacholin" (c) gefundenen Aminmengen ($5,3 \pm 3,2$ ng/min Nor-

adrenalin; $212,8 \pm 24,10$ ng/min α -Methyladrenalin) galt ebenfalls das, was bei dem ersten Effekt der vorigen Versuchsgruppe (b) dargestellt wurde. Mittelwertsvergleiche mit den entsprechenden Kontrollsergebnissen ergaben auch hier keinen signifikanten Unterschied zu den Kontrollen (belegt durch $p > 0,4$ bzw. $p > 0,8$). Bei Zusatz von Methacholin (4×10^{-5} M) wurden in den Perfusaten $1,5 \pm 2,89$ ng/min Noradrenalin und $126,2 \pm 9,50$ ng/min α -Methyladrenalin ermittelt. Diese Aminfreisetzung unterschied sich von den Kontrollen nicht signifikant (belegt durch $p > 0,3$ bzw. $p > 0,8$). Die Abgabe von α -Methyladrenalin entsprach $61 \pm 5,4$ % derjenigen der ersten Periode. Der prozentuale Anteil des "falschen" Transmitters an der gesamten Aminfreisetzung durch Tyramin blieb in Anwesenheit von Methacholin ebenfalls unbeeinflusst. Er lag für die drei Perioden bei $97 \pm 1,3$ %, $98 \pm 1,4$ % und $92 \pm 2,1$ %.

Wie frühere Untersuchungen ergaben (Fozard und Muscholl, 1972), kann Atropin ($1,44 \times 10^{-6}$ M) die Wirkung muskarinartiger Substanzen wie Methacholin auf die Aminfreisetzung aufheben. In den vorliegenden Versuchen hatte Atropin allein keinen Einfluß auf die durch Tyramin ausgelöste Aminabgabe. Die Noradrenalinfreisetzung während der ersten Periode betrug $2,3 \pm 12,6$ ng/min, die für α -Methyladrenalin lag bei $268 \pm 25,1$ ng/min. Im Vergleich zu den Kontrollen wurden die Signifikanzschranken für beide Amine nicht überschritten ($p > 0,4$ bzw. $p > 0,1$). Zusatz von Methacholin (4×10^{-5} M) brachte eine den Kontrollen ähnliche ($p > 0,9$; $p > 0,1$) Abgabe von $7,7 \pm 3,06$ ng/min Noradrenalin und $149,7 \pm 10,09$ ng/min α -Methyladrenalin in die Perfusate. Der Prozentanteil von α -Methyladrenalin an der Gesamtaminfreisetzung blieb

in Anwesenheit von Atropin mit $95 \pm 1,3 \%$ gegenüber den Kontrollen ebenfalls unverändert. Eine zusammenfassende Übersicht über die Ergebnisse mit Calcium-Entzug, Methacholin und Atropin hinsichtlich der Aminfreisetzung durch Tyramin gibt Abb. 2.

4. Einfluß von Calcium-Entzug, Methacholin und Atropin auf die Transmitterfreisetzung durch Kalium-reiche Tyrodelösung.

In Abschnitt C 2 dieser Arbeit wurde die Katecholaminabgabe durch Kaliumionen in einer Konzentration von 54 mÄq/l ausführlich dargestellt. Die dort beschriebenen Ergebnisse dienten als Kontrollen, mit denen die nunmehr zu erörternden Aminfreisetzungen durch Modifikation der Kalium-reichen Tyrodelösung zu vergleichen waren. Die durch die einzelnen Effekte erzielten Aminabgaben wurden in ng ausgedrückt, das Ergebnis der ersten Reizung außerdem gleich 100% gesetzt, und der Amingehalt der Perfusate des zweiten und dritten Effekts prozentual auf denjenigen der ersten Periode bezogen. Desweiteren wurde jeweils der Prozentanteil von α -Methyladrenalin an der Gesamtaminabgabe ermittelt.

Der bei der ersten Reizung der Versuchsgruppe "Calcium-arme Tyrodelösung" (b) erzielte Amingehalt in den Perfusaten unterschied sich nicht signifikant von den Kontrollen: Noradrenalin $123,9 \pm 44,30 \text{ ng}$ ($p > 0,4$); α -Methyladrenalin $404,0 \pm 47,60 \text{ ng}$ ($p > 0,2$). Der Anteil von α -Methyladrenalin am Gesamtamingehalt lag bei $79,8 \pm 4,00 \%$. Senkung der Calcium-Konzentration auf $0,2 \text{ mÄq/l}$ führte zu einer Noradrenalinabgabe von $5,5 \pm 6,11 \text{ ng}$ entsprechend $14 \pm 12,7 \%$ der Freisetzung während der ersten Periode. Gegenüber den Kontrollversuchen bedeutete das eine signi-

fikante Senkung der Noradrenalinausschüttung ($p < 0,005$). Ähnliches galt für χ -Methyladrenalin: Im Perfusat waren nur $105,9 \pm 11,50$ ng entsprechend $26,7 \pm 1,90$ % der Freisetzung durch die erste Stimulation enthalten. Dieses Ergebnis lag ebenfalls außerhalb der Signifikanzschranken im Vergleich zu den Kontrollen ($p < 0,001$).

Legende zu Abb. 3.

Abgabe von Noradrenalin (NA) und χ -Methyladrenalin (χ -MA) aus den isolierten Kaninchenherzen während 4 minütiger Perfusion mit Kalium-reicher Tyrodelösung (K^+ 54 mÄq/l). Dargestellt sind die drei die Aminfreisetzung auslösenden Kalium-Effekte (K 1, K 2, K 3; jeweils 15 min Abstand), und zwar die Aminabgabe des zweiten und dritten Effekts in Prozent bezogen auf die des ersten Effekts, dessen absoluter Wert gleich 100 % gesetzt wurde; für den jeweils ersten Effekt sind auch die Werte für NA und χ -MA in ng ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) angegeben. Die Abbildung zeigt die Versuchsgruppen "Kontrollen" ($n = 6$), "Calcium-arme Tyrodelösung" ($n = 6$), "Methacholin" ($n = 6$) und "Atropin + Methacholin" ($n = 3$). Calcium-arme Tyrodelösung: 0,2 mÄq/l Ca^{++} 7 min vor und während K 2; Methacholin 4×10^{-5} M 3 min vor und während K 2; Atropin $1,44 \times 10^{-6}$ M 8 min vor K 1 bis nach K 3. Die Säulen repräsentieren die Mittelwerte $\pm$ einmal den mittleren Fehler des Mittelwertes, der jedoch wegen der Übersichtlichkeit bei manchen Säulen nur in einer Richtung gezeichnet ist. Die Querbalken unter dem jeweiligen K 2 (außer Kontrollen) sollen den wichtigen Effekt hervorheben.

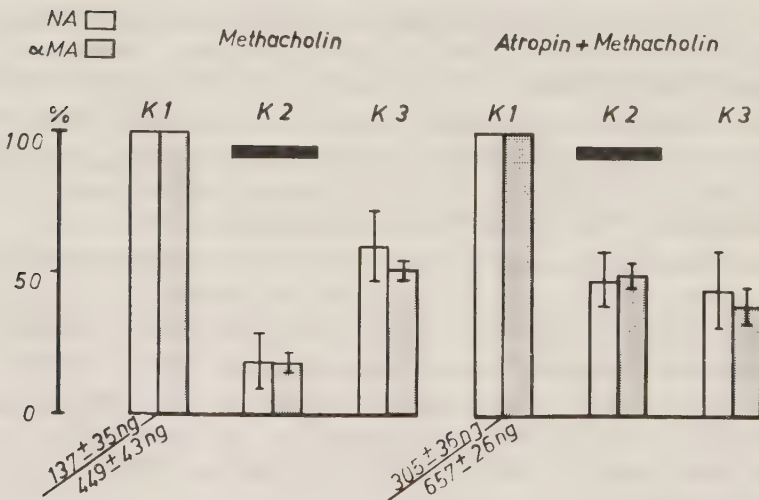
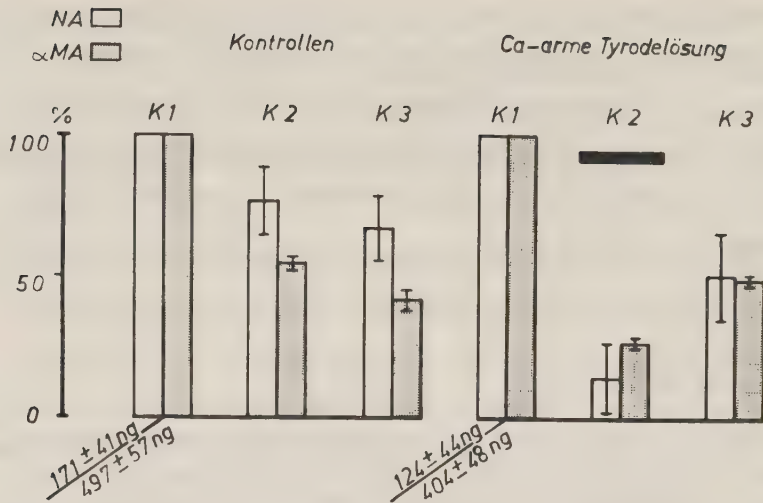


Abb. 3 (Legende siehe Seite 25)

Mit $94 \pm 3,6 \%$ war jedoch der prozentuale Anteil von α -Methyladrenalin an der Gesamtaminabgabe gegenüber dem Wert des ersten Effekts und dem Vergleichswert der Kontrollen erhöht. Dieses resultierte aus einer stärkeren Senkung der Noradrenalinabgabe bei allgemeiner Verringerung der Gesamtaminfreisetzung. Erhöhung der Calciumkonzentration auf $3,6 \text{ mMol/l}$ (3. Effekt) hob die Gesamtaminabgabe wie die von Noradrenalin ($67,1 \pm 27,49 \text{ ng}$) und α -Methyladrenalin ($197,4 \pm 22,04 \text{ ng}$) wieder an. Der prozentuale Anteil des "falschen" Transmitters am Gesamtaminanteil lag mit $79,8 \pm 6,40 \%$ in vergleichbarer Höhe mit dem Ergebnis des ersten Effekts und den entsprechenden Kontrollwerten. Eine graphische Darstellung der Aminabgabe bei dieser Versuchsreihe zeigt Abb. 3.

Bei der Versuchsgruppe "Methacholin" (c) unterschied sich die Abgabe von Noradrenalin ($137,1 \pm 35,10 \text{ ng}$) und α -Methyladrenalin ($448,8 \pm 43,02 \text{ ng}$) während des ersten Effekts nicht von den Kontrollen (beide $p > 0,5$). Zusatz von Methacholin ($4 \times 10^{-5} \text{ M}$) zur Kalium-reichen Tyrodelösung führte zu einer Verringerung des Amingehalts in den Perfusaten. Dabei wurde der Gehalt von Noradrenalin in Prozent des Wertes der ersten Periode mit $18,8 \pm 10,20 \%$ im gleichen Maße gesenkt wie der von α -Methyladrenalin ($18,4 \pm 3,50 \%$). Im Vergleich zu den Kontrollen ließ sich eine signifikante Senkung feststellen ($p < 0,005$; $p < 0,001$). Der Anteil des "falschen" Überträgerstoffes an der Gesamtaminfreisetzung entsprach mit $79,9 \pm 6,90 \%$ etwa dem des ersten Effekts wie auch den Kontrollwerten. Ohne Methacholin stieg die Aminfreisetzung wieder an: Noradrenalin $68,9 \pm 13,50 \text{ ng}$; α -Methyladrenalin $228,3 \pm 27,60 \text{ ng}$. Dabei war die Zunahme von Noradrenalin bezogen auf

die Abgabe während der ersten Stimulation mit $59,4 \pm 12,80 \%$ etwas größer als die der "falschen" Überträgersubstanz ($51,1 \pm 3,10 \%$). α -Methyladrenalin hatte einen Anteil von $77 \pm 3,5 \%$ an der Gesamtaminabgabe.

Zugabe von Atropin ($1,44 \times 10^{-6}$ M) führte zu einer Noradrenalinabgabe von $304,6 \pm 36,49$ ng durch 54 mÄq/l Kaliumionen, α -Methyladrenalin war in einer Menge von $656,5 \pm 26,36$ ng in den Perfusaten enthalten. Beide Ergebnisse unterschieden sich nicht von den Kontrollen (belegt durch $p > 0,05$). Atropin antagonisierte die Wirkung von Methacholin, wie der Gehalt von Noradrenalin ($138,6 \pm 8,88$ ng, entsprechend $48 \pm 9,1 \%$ der 1. Periode) und α -Methyladrenalin ($326,3 \pm 32,41$ ng, $50 \pm 4,3 \%$ der ersten Reizung) in den Perfusaten zeigte. Ein wesentlicher Unterschied zu den Kontrollen bestand nicht ($p > 0,5$ bzw. $p > 0,2$). Auch die dritte Stimulation (ohne Methacholin) entsprach mit ihrer Katecholaminfreisetzung den Kontrollen (Abb. 3). Der prozentuale Anteil von α -Methyladrenalin am Gesamtamingehalt in den Perfusaten mit $69 \pm 3,3 \%$, $70 \pm 1,2 \%$ und $67 \pm 2,1 \%$ entsprach denjenigen Proportionen, mit denen Kaliumionen bei den übrigen Versuchen Noradrenalin und α -Methyladrenalin in die Perfusate abgaben.

Eine vergleichende Übersicht über die Aminabgaben durch Kaliumreiche Tyrodelösung und deren Modifikationen zeigt Abb. 3.

5. Wirkung von Calcium-Entzug, Methacholin und Atropin auf den Koronarperfusionsdruck, die Spannungsentwicklung und Schlagfrequenz des Kaninchenherzens.

Während der durchgeführten Perfusionen der isolierten Kaninchenherzen zeichneten Registriergeräte, wie es im Abschnitt B 3 dieser Arbeit beschrieben worden war, den Verlauf des Koronarperfusionsdruckes, die Spannungsentwicklung des rechten Vorhofs und rechten Ventrikels und die Schlagfrequenz des Herzens auf.

Der Koronarperfusionsdruck der isolierten Herzen blieb bei Perfusion mit Tyramin-haltiger Tyrodelösung und deren Veränderungen durch Calcium-Entzug, Zusatz von Methacholin und Atropin nahezu unbeeinflusst. Nach Infusion von Tyramin stieg der Druck jeweils nur um einige mm Hg an und ging nach Absetzen von Tyramin auf seinen Ausgangswert zurück.

Legende zu Abb. 4

Verlauf des mittleren Koronarperfusionsdrucks während 4 minütiger Perfusion der isolierten Kaninchenherzen mit Kalium-reicher (54 mÄq/l) Tyrodelösung. Dargestellt ist der mittlere Koronarperfusionsdruck absolut in mm Hg zur Zeit 0 min (o---●) (Beginn des Kaliumreizes) und seine jeweilige Zunahme in mm Hg nach 1, 2 und 4 min addiert zum Absolutwert (●—●) für die drei Effekte der Versuchsgruppen "Kontrollen" (n = 6), "Calcium-arme Tyrodelösung" (n = 6), "Methacholin" (n = 6) und "Atropin + Methacholin" (n = 3). Calcium-arme Tyrodelösung: 0,2 mÄq/l Ca^{++} 7 min vor und während K 2; Methacholin 4×10^{-5} M 3 min vor und während K 2; Atropin $1,44 \times 10^{-6}$ M 8 min vor K 1 bis nach K 3. Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ einmal dem mittleren Fehler des Mittelwertes, der jedoch wegen der Übersichtlichkeit bei manchen Symbolen nur in einer Richtung gezeichnet ist.

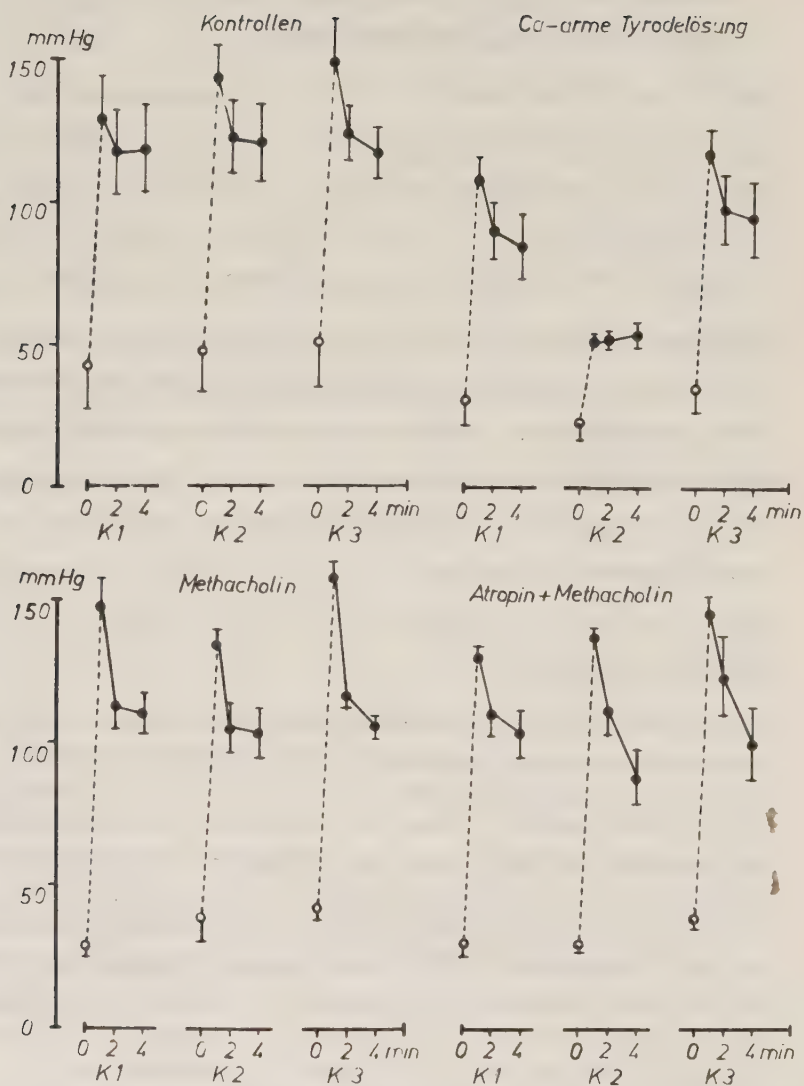


Abb. 4 (Legende siehe Seite 29)

Der Koronarperfusionsdruck blieb während Calcium- Armut oder Methacholin bei seinem Ausgangswert oder fiel sogar leicht ab, was besonders bei Durchströmung der Koronargefäße mit Calcium- armer Tyrodelösung beobachtbar war. Atropin zeigte ebenfalls keinen Einfluß auf den Druckverlauf. Kaliumionen in einer Konzentration von 54 mÄq/l führten dagegen nach kurzer Latenzzeit zu einem steilen Druckanstieg, dessen Gipfel nach etwa einer Minute erreicht war. Nach einem mäßigen Rückgang nach einer weiteren Minute stellte sich der Koronarperfusionsdruck bis zum Ende des Kaliumreizes auf ein nahezu konstantes Niveau ein (Abb. 4). Bei Durchströmung mit Tyrodelösung ging der Druck auf seinen Wert vor der Kalium-Perfusion zurück. Dieser Ausgangswert lag für die drei Kontrolleffekte bei $42 \pm 15,1 \text{ mm Hg}$, $47 \pm 15,1 \text{ mm Hg}$ und $50 \pm 16,2 \text{ mm Hg}$. Aus diesen Angaben wird jedoch ersichtlich, daß ein völliger Rückgang auf die Druckhöhe vor der Stimulation nicht erfolgte, da der jeweilige Ausgangsdruck vor dem nächsten durch Kaliumionen bedingten Anstieg etwas höher lag. Aus der schematischen Darstellung des Koronarperfusionsdruckes während Kalium-Perfusion (Abb. 4) ist auch der Einfluß von Calcium-Entzug, Methacholin und Atropin ersichtlich. Senkung der Calciumkonzentration auf $0,2 \text{ mÄq/l}$ führte mit einer Druckzunahme von $27 \pm 0,8 \text{ mm Hg}$ nach einer Minute zu einer im Vergleich zu den Kontrollen ($95 \pm 12,2 \text{ mm Hg}$) deutlich geringeren Steigerung des Druckes. Dieses Ergebnis wurde durch eine einfache Varianzanalyse statistisch bestätigt ($p < 0,01$, Tab. 3 b). Da die übrigen Versuchsgruppen, wie im weiteren gezeigt wird, keine auffälligen Unterschiede zu den Kontrollen zeigten, ist das signifikante

Tab. 3

- a. Einfache Varianzanalyse der Zunahme des Koronarperfusionsdruckes in mm Hg 1 min nach Perfusionsbeginn mit 54 mÄq/l Kaliumionen. Verglichen wurden die Werte der ersten Effekte (K 1) der infolge der Behandlung der Herzen mit unterschiedlichen Perfusionslösungen entstandenen Versuchsgruppen: Kontrollen, Calcium-arme Tyrodelösung, Methacholin und Methacholin + Atropin.

Variationsursachen	SAQ	FG	MAQ	F-Wert	p
Innerhalb der Behandlungen	11178,0	17	657,5	---	---
Zwischen den Behandlungen	5875,2	3	1958,4	2,98	> 0,05
Gesamt	17053,2	20	---	---	---

- b. Einfache Varianzanalyse der Zunahme des Koronarperfusionsdruckes in mm Hg 1 min nach Perfusionsbeginn mit 54 mÄq/l Kaliumionen. Verglichen wurden die Werte der zweiten Effekte (K 2) der infolge der Behandlung der Herzen mit unterschiedlichen Perfusionslösungen entstandenen Versuchsgruppen: Kontrollen, Calcium-arme Tyrodelösung, Methacholin und Methacholin + Atropin.

Variationsursachen	SAQ	FG	MAQ	F-Wert	p
Innerhalb der Behandlungen	5417,6	17	318,7	---	---
Zwischen den Behandlungen	21918,5	3	7306,2	22,9	< 0,01
Gesamt	27336,2	20	---	---	---

SAQ = Summe der Abweichungsquadrate

MAQ = Mittleres Abweichungsquadrat

FG = Anzahl der Freiheitsgrade

Ergebnis allein auf die Versuchsgruppe "Calcium-arme Tyrodelösung" zurückzuführen. Um zu zeigen, daß der Befund nur auf Calcium-Entzug beruht, wurde eine entsprechende einfache Varianzanalyse für die ersten Effekte (K 1) der vier Versuchsreihen durchgeführt. Erwartungsgemäß ergab sich keine Signifikanz (belegt durch $p > 0,05$, Tab. 3 a). Bei Calcium-Entzug trat erst nach 4 Minuten mit einer Zunahme von $30 \pm 3,5$ mm Hg ein Maximum im Druckverlauf ein. Methacholin zeigte im Vergleich zum entsprechenden Kontrollversuch keinen Einfluß auf den Verlauf des Koronarperfusionsdruckes. Hier lag die Druckzunahme nach einer Minute bei $95 \pm 5,4$ mm Hg. Bei Zugabe von Atropin stieg der Druck maximal um $108 \pm 2,6$ mm Hg gegenüber dem Ausgangswert an.

Da Kaliumionen in einer Konzentration von 54 mM/l zur Aufhebung der Kontraktilität des Herzmuskels führen, wie die durch Perfusion mit Kalium-reicher Tyrodelösung erzielten Herzstillstände bewiesen, liegen der folgenden Untersuchung der Spannungsentwicklung und Schlagfrequenz des Herzens die Effekte der Tyramin-Reizung und deren Abwandlung durch Calcium-Entzug, Methacholin- und Atropinzusatz zugrunde. Wie frühere Untersuchungen ergaben (Lindmar, Muscholl und Sprenger, 1967), wird durch $10 \mu\text{g/ml}$ Tyramin die Kontraktionsamplitude und Schlagfrequenz des isolierten Kaninchenherzens maximal gesteigert. Da bei den in der vorliegenden Arbeit vorgenommenen Untersuchungen in erster Linie eine optimale Aminfreisetzung erzielt werden sollte, die jedoch schon bei Tyraminkonzentrationen von $2,5 \mu\text{g/ml}$ und $5 \mu\text{g/ml}$ (Lindmar, Muscholl und Sprenger, 1967) auftritt,

bezieht sich die folgende Darstellung der positiv ino- und chronotropen Effekte von Tyramin auf die hier verwendete Konzentration von $5 \mu\text{g/ml}$. Die Vorhöfe erhielten eine diastolische Vorspannung von 0,8 g, ermittelt wurde die systolische Spannungsentwicklung vor einem Perfusionseffekt, sowie 30 Sekunden, 2 Minuten und 5 Minuten nach Tyramin.

Wie aus Abb. 5 ersichtlich ist, hatte die Spannungsentwicklung bei den meisten Untersuchungen nach 30 Sekunden mit einer Steigerung zwischen 31 % und 69 % bezogen auf den Wert vor der Tyraminperfusion ihr Maximum erreicht. Eine Ausnahme davon machten der zweite und dritte Effekt der Kontrollversuche und der Versuchsreihe "Atropin + Methacholin", bei denen die Spannungsentwicklung erst nach 2 Minuten ihr Maximum erreichte, um dann auf einer konstanten Höhe zu bleiben.

Legende zu Abb. 5.

Systolische Spannungsentwicklung des rechten Vorhofs des isolierten Kaninchenherzens während 5 minütiger Tyramin-Perfusion ($5 \mu\text{g/ml}$). Dargestellt ist die Spannungsentwicklung in g während der drei Tyramineffekte (T 1, T 2, T 3; jeweils 15 min Abstand) der Versuchsreihen "Kontrollen" (n = 6), "Calcium-arme Tyrodelösung" (n = 6), "Methacholin" (n = 6) und "Atropin + Methacholin" (n = 3) zum Zeitpunkt 0 min, 0,5 min, 2 und 5 min. Diastolische Vorspannung des rechten Vorhofs 0,8 g. Calcium-arme Tyrodelösung: 0,2 mM Calcium/17 min vor und während T 2; Methacholin 4×10^{-5} M 3 min vor und während T 2; Atropin $1,44 \times 10^{-6}$ M 8 min vor T 1 bis nach T 3. Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ einmal dem mittleren Fehler des Mittelwertes, der jedoch wegen der Übersichtlichkeit bei manchen Symbolen nur in einer Richtung gezeichnet ist.

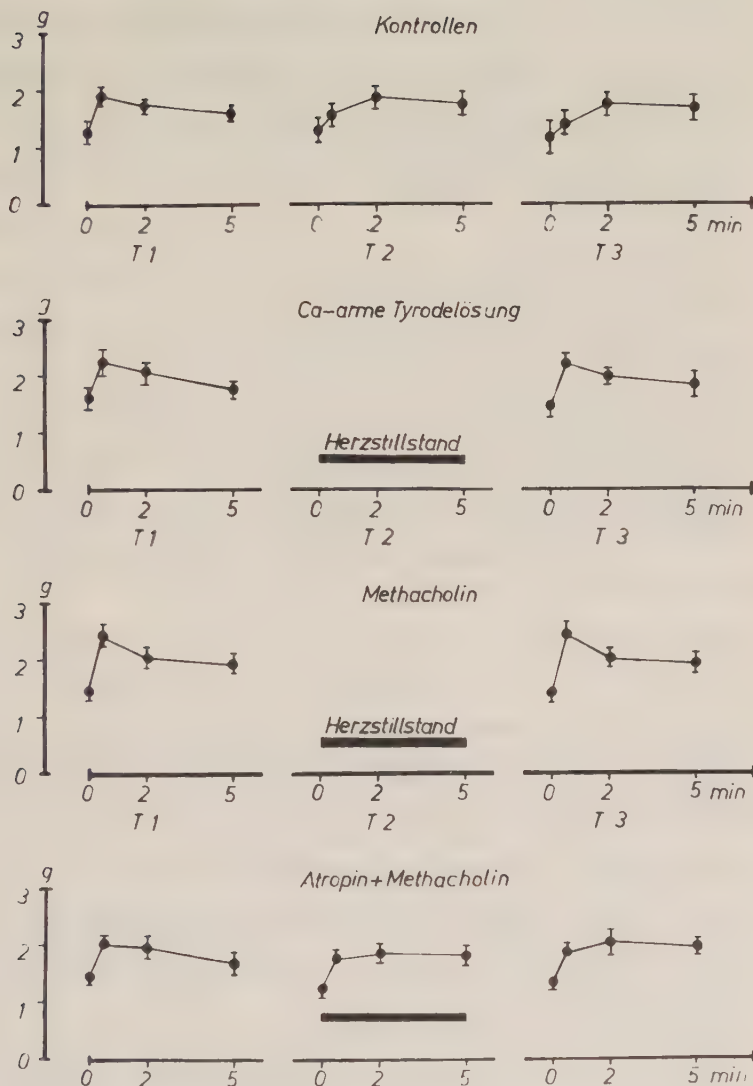


Abb. 5 (Legende siehe Seite 34)

Bei den übrigen Vorhöfen nahm die Spannungsentwicklung nach Erreichen des Maximums mit fortschreitender Reizdauer fast kontinuierlich ab. Nach Beendigung der Tyraminperfusion hielt die gesteigerte Kontraktionskraft des Vorhofmyokards noch einige Zeit an, maximal etwa 7 Minuten, wonach wieder Kontraktionen wie vor dem Tyraminreiz eintraten.

Infolge der Senkung der Calcium-Konzentration auf $0,2 \text{ mM}$ kam es bei drei Vorhöfen zum völligen Stillstand, bei den übrigen drei zur Auslösung sporadischer Kontraktionen über die ganze Dauer des Effekts. Wurden die Herzen wieder mit einfacher Tyrodelösung perfundiert, so verzeichnete man anfänglich eine überschießende Spannungsentwicklung mit nachfolgender Normalisierung und Einstellung auf den Ruhewert. Der während dieser Zeit registrierte Kurvenverlauf ähnelte dem in Abb. 5 dargestellten Verlauf nach Tyramin. Diese beobachtete gesteigerte mechanische Reaktion des Vorhofs während dieser Periode dürfte jedoch überwiegend eine Folge der wieder vermehrt vorhandenen Calciumionen sein, deren höhere Konzentration einen Reiz für das Myokard darstellte. Eine weitere Ursache könnte in dem im Gewebe des Herzmuskels noch vorhandenen Tyramin liegen, dessen Wirkung trotz Absetzens, wie oben erwähnt, noch einige Zeit anhielt und durch die Normalisierung der Calcium-Konzentration wieder Einfluß gewann.

Methacholin ($4 \times 10^{-5} \text{ M}$) führte bei drei Vorhöfen zur vollständigen Aufhebung der Kontraktilität des Myokards, bei den restlichen drei Herzen traten noch vereinzelte Kontraktionen auf. Auch nach Absetzen von Methacholin und Perfusion mit Tyro-

delösung waren erst nach einigen Minuten wieder normale Ruhekontraktionen zu beobachten.

Atropin ($1,44 \times 10^{-6}$ M) hatte keinen Einfluß auf die Spannungsentwicklung des Vorhofs, wie ein Vergleich mit den Kontrollen zeigte. Die Wirkung von Methacholin wurde durch Atropin vollständig antagonisiert (Abb. 5).

Die systolische Spannungsentwicklung des rechten Ventrikels während der Perfusion von Tyramin und deren Veränderungen durch Senkung der Calcium-Konzentration oder Zusatz von Methacholin und Atropin zeigt die schematische Darstellung (Abb. 6). Die Ventrikel erhielten eine diastolische Vorspannung von 5 g, die gewählten Zeiten zur Bestimmung der jeweiligen Spannungszunahme entsprachen denjenigen der Vorhöfe.

Legende zu Abb. 6.

Systolische Spannungsentwicklung des rechten Ventrikels und Schlagfrequenz des isolierten Kaninchenherzens während 5 minütiger Tyramin-Perfusion ($5 \mu\text{g/ml}$). Dargestellt ist die Spannungsentwicklung in g (linke Ordinate; ●—●) zum Zeitpunkt 0 min, nach 0,5 min, nach 2 und 5 min sowie der Frequenzverlauf in min^{-1} (rechte Ordinate; o----o) zum Zeitpunkt 0 min, nach 1 und 5 min während der drei Tyramineffekte (T 1, T 2, T 3; jeweils 15 min Abstand) der Versuchsreihen "Kontrollen" (n = 6), "Calcium-arme Tyrodelösung" (n = 6), "Methacholin" (n = 6) und "Atropin + Methacholin" (n = 3). Diastolische Vorspannung des rechten Ventrikels 5 g. Calcium-arme Tyrodelösung: $0,2 \text{ mÄq/l Ca}^{++}$ 7 min vor und während T 2; Methacholin 4×10^{-5} M 3 min vor und während T 2; Atropin $1,44 \times 10^{-6}$ M 8 min vor T 1 bis nach T 3. Die Punkte und Kreise geben die Mittelwerte $\pm$ einmal den mittleren Fehler des Mittelwertes an, der jedoch wegen der Übersichtlichkeit bei manchen Symbolen nur in einer Richtung gezeichnet ist.

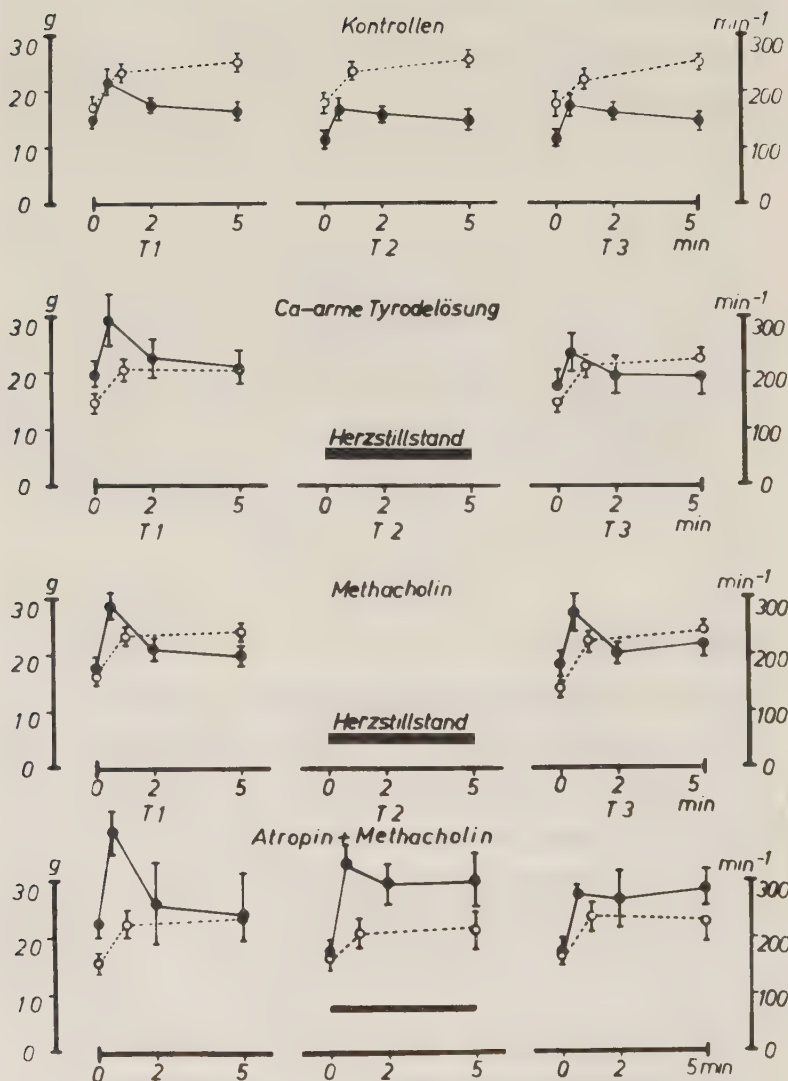


Abb. 6 (Legende siehe Seite 37)

Bei allen Registrierungen war der maximale Spannungsanstieg des Ventrikels bereits nach 30 Sekunden erreicht, der im allgemeinen zwischen 46 % und 72 % (bezogen auf den Wert vor Tyramin) lag. Nur bei dem zweiten Perfusionseffekt der Versuchsgruppe "Methacholin + Atropin" war die größte Steigerung mit 89 % festzustellen. Die Zunahme der Spannungsentwicklung hielt nach Absetzen von Tyramin noch einige Minuten an, im Unterschied zum Vorhof jedoch maximal bis kurz vor Beginn der nächsten Tyramingabe.

Nach Calcium-armer Lösung waren die regelmäßigen Kontraktionen des Ventrikels aufgehoben; in zwei Fällen traten vereinzelte Kontraktionen auf. Normalisierung der Calciumkonzentration wirkte auch auf das Ventrikelmuskulatur als Stimulus, wobei jedoch die Reaktion auf Calcium wesentlich stärker war als die der Vorhöfe.

Zusatz von Methacholin (4×10^{-5} M) führte in vier Fällen zu Herzstillstand mit gelegentlichen Kontraktionen und bei zwei Herzen zum vollständigen Stillstand. Atropin ($1,44 \times 10^{-6}$ M) hob auch am rechten Ventrikel die Wirkung von Methacholin auf, wie aus Abb. 6 ersichtlich ist.

Während die Spannungsentwicklung der Kammer sofort nach Gabe von Tyramin ihr Maximum erreichte, war die maximale Frequenzsteigerung erst gegen Ende einer jeden Tyraminperfusion festzustellen. Diese Frequenzzunahme betrug etwa 33 % bis 65 % bezogen auf den Wert vor der Stimulation durch Tyramin. Die Verlaufsform der Frequenz war bei allen Versuchsgruppen annähernd gleich (Abb. 6). Der positiv chronotrope Effekt von Tyramin hielt auch nach dessen Absetzen noch einige Minuten an, wonach die Herzen wieder zu ihrer Ruheschlagfrequenz zurückkehrten.

Wurde während der Durchströmung der Koronarien mit Tyramin gleichzeitig Calcium entzogen, so kam es zum Stillstand der Herzen, der durch Normalisierung der Calciumkonzentration beseitigt wurde. Diese schon dargestellte Beobachtung ließ sich auch bei der Perfusion der Herzen mit Kalium-reicher Tyrodelösung und gleichzeitigem Calcium-Entzug machen. Die Herzen hatten durch die hohe Kaliumkonzentration bedingt ihre Kontraktilität verloren und zeigten bei Erhöhung der Calciumkonzentration auf den Normalwert im Anschluß an den Kaliumeffekt eine anfänglich ebenfalls überschießende Spannungsentwicklung. In einem Versuch wurde der Amingehalt in dem während Calcium-armer Tyrodelösung gesammelten Perfusat bestimmt (2,3 ng/min Noradrenalin; 36,6 ng/min α -Methyladrenalin). Erhöhung der Calciumkonzentration auf den Normalwert im Anschluß an die Calcium-arme Periode zeigte jedoch in dem gesammelten Perfusat keinen vermehrten Amingehalt (-1,7 ng/min Noradrenalin; 25,1 ng/min α -Methyladrenalin). Für die gesteigerten Kontraktionen war wahrscheinlich die Zunahme der Calciumkonzentration verantwortlich, ohne daß eine vermehrte Aminausschüttung zu verzeichnen war (diese war gegenüber der Spontanabgabe von Noradrenalin ($-0,3 \pm 0,85$ ng/min) und α -Methyladrenalin ($18,5 \pm 3,90$ ng/min) nicht vermehrt).

In Zusammenhang damit dürfte auch eine weitere Beobachtung stehen. Perfundierte man die Koronarien nach einem Kalium-Effekt mit Tyrodelösung, so konnte man für die vier Versuchsreihen eine unterschiedliche Erholungszeit des Myokards feststellen. Als Vergleichspunkt wurden die Zeiten ermittelt, die benötigt wurden, bis der rechte Ventrikel und Vorhof die Hälfte ihrer späteren

Spannungsentwicklung erreicht hatten. Eine Übersicht über die von den Herzen der vier Versuchsreihen benötigten Erholungszeiten gibt Tabelle 4.

Tab. 4.

Erholungszeiten der isolierten Kaninchenherzen während Perfusion mit Tyrodelösung nach einem durch 54 mÄq/l Kaliumionen hervorgerufenen Herzstillstand.

Versuchsgruppe	n	reVo	reVe
Kontrollen	6	254 $\pm$ 19	228 $\pm$ 37
Calcium-arme Tyr.	6	71 $\pm$ 25	45 $\pm$ 18
Methacholin	6	125 $\pm$ 24	102 $\pm$ 19
Methacholin + Atr.	3	240 $\pm$ 40	151 $\pm$ 57

Dargestellt sind die vom rechten Vorhof (reVo) und rechten Ventrikel (reVe) benötigten Zeiten in sec bis zum Erreichen der Hälfte der späteren systolischen Spannungsentwicklung. Verglichen wurden die Zeiten nach den zweiten Effekten (K 2) der vier Versuchsgruppen. Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ einmal dem mittleren Fehler des Mittelwertes.

Wie aus Tab. 4 ersichtlich ist, waren 50 % der normalen Spannungsentwicklung am schnellsten bei der Versuchsreihe "Calcium-arme Tyrodelösung" erreicht. Nach Methacholin war die Erholungszeit der Herzen schon etwas verlängert, jedoch immer noch kürzer als die der Kontrollherzen. Aus den Werten ging aber auch hervor,

daß die rechte Herzkammer ihre Funktionstüchtigkeit früher zurückerlangte als der rechte Vorhof. Diese Befunde wurden durch eine dreifach partiell hierarchische Varianzanalyse statistisch belegt (Tab. 5). Nach dem Ergebnis der Varianzanalyse stand fest, daß sich die Erholungszeiten der Herzen nach Calcium-Entzug und Methacholin signifikant von den Kontrollen unterschieden ($p < 0,01$). Bei allen Versuchsgruppen war ein statistisch auffälliger Unterschied ($p < 0,05$) in den Erholungszeiten zwischen rechtem Vorhof und rechtem Ventrikel festzustellen. Zwischen den Herzen innerhalb einer Behandlung bestand dagegen kein auffälliger Unterschied ($p > 0,05$).

Tab. 5.

3-fach partiell hierarchische Varianzanalyse der Erholungszeiten der Herzen nach 4 min Kalium-Perfusion (54 mAq/l) der Versuchsgruppen: Kontrollen, Calcium-arme Tyrodelösung, Methacholin und Methacholin + Atropin.

Variationsursachen	SAQ	FG	MAQ	F-Wert	p
Zwischen den Behandlg.	227282,4	3	75760,8	15,3	$< 0,01$
Zwischen den Herzen	84038,5	17	4943,4	2,2	$> 0,05$
Zw. den Herzanteilen	12411,5	1	12411,5	5,5	$< 0,05$
Behandlung/Herzanteil	5361,5	3	1787,2	---	---
Rest	37993,9	17	2234,9	---	---

SAQ = Summe der Abweichungsquadrate

MAQ = Mittleres Abweichungsquadrat

FG = Anzahl der Freiheitsgrade

Als letztes soll ein weiterer Befund in diesem Zusammenhang Erwähnung finden, für den es zwar keinen quantitativen Beleg gibt, der aber aufgrund sorgfältiger Beobachtung der perfundierten Kaninchenherzen auffällig und erwähnenswert erscheint. Die Perfusion der Koronarien mit Kalium-reicher Tyrodelösung führte neben dem bereits erwähnten Stillstand des Herzens zu einer Verringerung des Umfanges und der Herzsilhouette. Gleichzeitiger Calcium-Entzug hob diese Wirkung der Kaliumionen auf. Methacholin zeigte keinen Einfluß darauf.

6. Amingehalt der Herzen nach Beendigung der Perfusionen.

Wenn die Herzen zur Bestimmung des Gehalts von Noradrenalin und α -Methyladrenalin homogenisiert wurden, waren seit Perfusionsbeginn etwa 135 Minuten vergangen. Der Gehalt der Herzextrakte an Noradrenalin und α -Methyladrenalin wurde ermittelt und auf das jeweilige Herzgewicht bezogen, um den unterschiedlichen Herzgewichten Rechnung zu tragen.

Wie aus Tab. 6 zu entnehmen ist, betrug der Anteil an Noradrenalin an den gesamten Katecholaminen der Herzen nur noch etwa 34 %. Obwohl die isolierten Kaninchenherzen mit verschiedenen Substanzen perfundiert worden waren, differierten die bei den einzelnen Versuchsgruppen in den Herzextrakten gefundenen Aminmengen wenig. Ebenso war der prozentuale Anteil von α -Methyladrenalin am Gesamtamingehalt der Herzen bei allen Versuchsgruppen gleich. Dieser Anteil von etwa 66 % entsprach dem Prozentsatz des "falschen" Überträgerstoffes, den Kaliumionen in die Perfusate freisetzen. Im Gegensatz dazu wurde α -Methyladrenalin durch Tyramin

in einem weitaus größeren Prozentsatz (etwa 90 %, Abschnitt C 2) in die Perfusate abgegeben, als diese Überträgersubstanz im Herzen gespeichert wurde. Diese Ergebnisse stimmen mit früheren Untersuchungen überein (Lindmar, Muscholl und Sprenger, 1967).

Tab. 6.

Amingehalt der Herzen nach Infusion von α -Methyladrenalin und Beendigung der Perfusion der isolierten Kaninchenherzen.

Versuchsgruppe	n	NA ($\mu\text{g/g}$)	α -MA ($\mu\text{g/g}$)	% von α -MA + NA
Kontrollen	6	$0,26 \pm 0,04$	$0,50 \pm 0,08$	$66 \pm 1,9$
Calc.-arme Tyr.	6	$0,23 \pm 0,03$	$0,42 \pm 0,02$	$66 \pm 2,8$
Methacholin	6	$0,27 \pm 0,04$	$0,51 \pm 0,05$	$66 \pm 2,8$
Methach. + Atr.	3	$0,33 \pm 0,03$	$0,61 \pm 0,04$	$65 \pm 1,9$

Dargestellt ist der in den Herzextrakten gefundene Gehalt an Noradrenalin (NA) und α -Methyladrenalin (α -MA) in $\mu\text{g/g}$ Herzgewicht. Die letzte Spalte zeigt den Prozentanteil von α -Methyladrenalin am Gesamtamingehalt. Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ einmal dem mittleren Fehler des Mittelwertes; n = Anzahl der untersuchten Herzen.

D. Diskussion

Aus früheren Arbeiten geht hervor, daß die Katecholaminfreisetzung durch sympathische Nervenreizung durch muskarinartige Substanzen dosisabhängig gehemmt wird. Dies wurde für Acetylcholin (Löffelholz und Muscholl, 1969), Methacholin und eine Reihe anderer Verbindungen (Fozard und Muscholl, 1972) nachgewiesen. In Anwesenheit von Atropin hemmen muskarinartige Substanzen die Noradrenalin ausschüttung durch adrenerge Nervenreizung jedoch nicht. In neuester Zeit wurde auch in anderen Organen, wie der Katzenmilz (Kirpekar, Prat, Puig und Wakade, 1972) und der Ohrarterie des Kaninchens (Allen, Glover, Rand und Story, 1972; Steinsland, Furchgott und Kirpekar, 1973) eine muskarinische Hemmung der Aminfreisetzung durch elektrische Nervenstimulation gefunden. Untersuchungen von Fuder (Med. Diss. aus dem Pharmakologischen Institut Mainz) zeigten, daß auch die Abgabe des "falschen" Überträgerstoffes α -Methyladrenalin durch sympathische Nervenreizung einer Hemmung durch Methacholin unterliegt. Die Freisetzung der Katecholamine durch nikotinartige Substanzen wie DMPP wird allmählich verringert und schließlich gehemmt, wenn muskarinartige Stoffe in steigender Konzentration zugesetzt werden (Lindmar, Löffelholz und Muscholl, 1968; Fozard und Muscholl, 1972). Neueste Untersuchungen mit p-Aminophenäthyltrimethylammonium (PAPETA) zeigten, daß die durch diese nikotinartige Substanz hervorgerufene Noradrenalinabgabe dosisabhängig durch Methacholin verringert wird; dieser Effekt wird durch Atropin aber vollständig unterdrückt (Muscholl, 1973). Ähnliches

wurde auch für die Freisetzung des "falschen" Überträgerstoffes α -Methyladrenalin durch PAPETA beobachtet (Med. Diss. H. Fuder).

In der vorliegenden Arbeit wurde der muskarinische Hemmechanismus bei zwei weiteren Freisetzungsverfahren untersucht, durch die endogenes Noradrenalin und der "falsche" Transmitter α -Methyladrenalin in die Perfusate abgegeben werden: Tyramin sowie Steigerung der Kalium-Konzentration.

Lindmar und Muscholl (1961) hatten gezeigt, daß Tyramin eine Freisetzung von Noradrenalin aus dem isolierten Kaninchenherzen bewirkt, andere Untersuchungen ergaben eine gleichartige Tyraminwirkung bezüglich der "falschen" Überträgersubstanz α -Methyladrenalin (Muscholl, 1966; Lindmar, Muscholl und Sprenger, 1967). Als indirekt sympathomimetisch wirkendes Amin setzt Tyramin endogenes Noradrenalin und die ebenfalls in die adrenergen Speicher aufgenommene "falsche" Überträgersubstanz durch einen Verdrängungsmechanismus aus dem "mobile pool" der Katecholaminspeicher frei. Gleichzeitig hemmt es die Wiederaufnahme der verdrängten Amine (Übersicht siehe Muscholl, 1972). Sympathische Nervenreizung oder nikotinartige Substanzen setzen Noradrenalin und den "falschen" Transmitter im selben Verhältnis frei, zu dem diese in den betreffenden Organen enthalten sind. Im Gegensatz dazu setzt Tyramin überwiegend den "falschen" Transmitter α -Methyladrenalin frei, während der prozentuale Anteil von Noradrenalin in den Perfusaten viel niedriger als in den Herzen ist (Lindmar, Muscholl und Sprenger, 1967). Auch in der vorliegenden Arbeit entsprach das Verhältnis von

Noradrenalin zu α -Methyladrenalin in den Perfusaten (Abb. 2) nicht der Aminverteilung in den Herzen nach Perfusionsende (Tab. 6). Dieses Ergebnis könnte daraus resultieren, daß sich der "falsche" Überträgerstoff nicht völlig mit dem endogenen Noradrenalin vermischt hat. Die Steigerung der Schlagfrequenz des Herzens und die Zunahme der systolischen Spannungsentwicklung von Vorhof und Kammer durch Tyramin macht deutlich, daß das freigesetzte α -Methyladrenalin auch funktionell wirksam war (Abb. 5 u. Abb. 6).

Senkung der Calcium-Konzentration auf 0,2 mM/l beeinflusste die Katecholaminfreisetzung durch Tyramin nicht, was besonders für die Abgabe des "falschen" Transmitters relevant ist, da dieser den überwiegenden Anteil ausmachte (Abb. 2). Nach Lindmar, Löffelholz und Muscholl (1967) und Thoenen, Huerlimann und Haefely (1969) wird Noradrenalin durch Tyramin auch in Calcium-armer Lösung freigesetzt. Dagegen ist die Abgabe von Noradrenalin (Hukovic und Muscholl, 1962; Kirpekar und Misu, 1967) und α -Methyladrenalin (H. Fuder, med. Diss.) durch sympathische Nervenreizung Calcium-abhängig. Die Noradrenalinabgabe durch Tyramin bei gleichzeitigem Calcium-Entzug war bei den vorliegenden Untersuchungen im Vergleich mit den Kontrollen signifikant verringert. Dieses Ergebnis ist jedoch kritisch zu beurteilen, da der Gehalt der Perfusate an Noradrenalin meist unterhalb der Nachweisgrenze der Methodik lag.

Während der Dauer des Calcium-Entzugs kam es zur Aufhebung der Kontraktilität des Myokards und zum Stillstand des Herzens. Dies steht in Übereinstimmung mit der bekannten Rolle des Calciums

bei der elektromechanischen Kopplung. Die während dieser Periode unbeeinflusste Aminfreisetzung durch Tyramin blieb aus diesem Grunde ohne funktionelle Bedeutung.

Methacholin (4×10^{-5} M) bewirkte einen Stillstand des Herzens, in einigen Fällen traten sporadische Einzelkontraktionen auf. Die systolische Spannungsentwicklung von Vorhof und Kammer sowie die Schlagfrequenz des Herzens waren somit um 100 % reduziert, was frühere Ergebnisse bestätigt (Fozard und Muscholl, 1972). Demgegenüber blieb die Freisetzung von Noradrenalin und dem "falschen" Transmitter α -Methyladrenalin durch Tyramin bei Zusatz von Methacholin unbeeinflusst, wie ein Vergleich mit den entsprechenden Kontrollen zeigt. Während die Katecholaminabgabe durch nikotinartige Substanzen wie DMPP (Lindmar, Löffelholz und Muscholl, 1968; Fozard und Muscholl, 1972) oder PAPETA (Fuder, med. Diss.) sowie durch sympathische Nervenreizung in Anwesenheit von Methacholin gehemmt ist, zeigt der Aminfreisetzungsmechanismus von Tyramin keine muskarinische Hemmbarkeit.

Atropin ($1,44 \times 10^{-6}$ M) hob die Wirkung von Methacholin auf die mechanische Reaktion des Herzens vollkommen auf. Früheren Arbeiten zufolge (Lindmar, Löffelholz und Muscholl, 1968; Fozard und Muscholl, 1972) beeinflusst Atropin in einer Konzentration unter $2,9 \times 10^{-6}$ M die Katecholaminfreisetzung durch DMPP oder sympathische Nervenreizung nicht; nach Löffelholz und Muscholl (1969) hat Atropin $2,9 \times 10^{-6}$ M auch keinen Einfluß auf die durch Tyramin hervorgerufene Noradrenalinfreisetzung, was durch die vorliegende Arbeit (Atropin $1,44 \times 10^{-6}$ M) bestätigt wird.

und auch auf die Freisetzung von α -Methyladrenalin ausgedehnt werden kann.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine weitere Möglichkeit der Aminfreisetzung, nämlich die durch Kalium-Ionen in hoher Konzentration, unter dem Aspekt der muskarinischen Beeinflussung und Calcium-Abhängigkeit untersucht. Diese Freisetzungsart wurde zur Untersuchung der Frage gewählt, ob die muskarinische Hemmung der Katecholaminfreisetzung auf einer Blockade der Erregungsausbreitung entlang der terminalen Axonmembran beruht. Orthodrome Impulsausbreitung bildet die Voraussetzung für die Transmitterfreisetzung durch sympathische Nervenreizung. Nikotinartige Substanzen rufen antidrome Erregungsausbreitung hervor, wenngleich auch deren ursächliche Bedeutung für die Transmitterfreisetzung noch unklar ist (Haeusler et al., 1968). Die muskarinische Hemmbarkeit der Aminausschüttung durch beide Stimulationsmethoden könnte darauf beruhen, daß die ortho- bzw. antidrome Impulsausbreitung in den terminalen Nervenfasern direkt gehemmt wird und dadurch die Transmitterfreisetzung absinkt. Daher wurde der Einfluß von Methacholin auf eine Freisetzungsart geprüft, bei der eine Impulsausbreitung entlang der Nervenfasern nicht erforderlich ist. Wie Haeusler et al. (1968) sowie Kirpekar und Wakade (1968) nachwiesen, setzen Kaliumionen unabhängig von der Erregungsausbreitung entlang der Axonmembran Noradrenalin frei.

Die vorliegende Arbeit zeigt, daß neben Noradrenalin (Dubey und Muscholl, 1973) auch der "falsche" Überträgerstoff

α -Methyladrenalin durch Kaliumionen an den terminalen Nervenfasern freigesetzt wird. Dabei entsprach das Verhältnis, in dem beide Amine in die Perfusate abgegeben wurden, demjenigen, mit dem beide im Herzen gespeichert wurden (Abb. 3 u. Tab. 6).

Verminderung des extrazellulären Calciums auf 0,2 mM/l verringerte sowohl die Noradrenalin- als auch die α -Methyladrenalinabgabe durch Kalium signifikant. Der prozentuale Anteil des "falschen" Transmitters an der Gesamtaminabgabe war jedoch gegenüber dem Wert des ersten Effekts und dem Vergleichswert der Kontrollen erhöht. Ob Calcium-Entzug die Freisetzung des physiologischen Überträgers Noradrenalin stärker beeinflusst als die von α -Methyladrenalin, kann jedoch daraus nicht geschlossen werden, da die Senkung der Noradrenalinabgabe gegenüber der von α -Methyladrenalin keinen signifikanten Unterschied zeigte.

Methacholin verringerte ebenfalls die Freisetzung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin durch Kaliumionen im Vergleich zu den Kontrollen. Die Abgabe dieser beiden Amine an den terminalen Nervenfasern durch Kaliumionen unterliegt demnach einer Hemmbarkeit durch muskarinartige Substanzen. Atropin hob diese Wirkung von Methacholin auf, wie Abb. 3 zeigt.

Erhöhung der Kaliumaußenkonzentration führt durch eine Depolarisation an der Muskelfasermembran zur Aufhebung der Kontraktilität des Myokards. Von diesem Stillstand in Kalium-reicher Lösung scheint sich das Herz in Anwesenheit von Calcium-Ionen am schnellsten zu erholen, wenn bei der Perfusion mit Kalium gleich-

zeitig die Calcium-Konzentration verringert war. Vielleicht strömt nach Umschalten auf Tyrodelösung Calcium vermehrt passiv in die durch vorherigen extrazellulären Calcium-Entzug an intrazellulärem Calcium verarmte Muskelfaser; dies könnte zu einer besonders schnellen Steigerung der Kontraktilität des Fibrillenapparats des Myokards führen.

Die Rolle des Calciums bei elektromechanischen Prozessen an der glatten Gefäßmuskulatur zeigt auch das Verhalten des Koronarperfusionsdrucks. Erhöhung der Kaliumaußenkonzentration führte zu einer Konstriktion der Koronargefäße und damit zu einem steilen Druckanstieg. An dieser Zunahme des Perfusionsdruckes könnte zusätzlich noch eine Steigerung des myokardialen Drucks infolge der beobachteten Verringerung des Herzumfanges beteiligt sein. Gleichzeitiger Calcium-Entzug dämpfte den durch Kaliumionen erzielten steilen Anstieg des Koronarperfusionsdruckes, was auf eine Erschwerung der Vasokonstriktion schließen läßt. Methacholin scheint keinen Einfluß auf den durch die Erhöhung der extrazellulären Kaliumionen bedingten steilen Anstieg des Koronarperfusionsdruckes zu haben. Es liegt die Vermutung nahe, daß die Koronargefäße keine muskarinartigen Rezeptoren besitzen oder der durch Kalium gesetzte Koronarspasmus zu ausgeprägt war.

Muskarinartige Rezeptoren an den Myokardzellen und -fasern sind lange bekannt; sie unterscheiden sich nicht von denjenigen an den Membranen der adrenergen Nervenfasern (Fozard und Muscholl, 1972). Methacholin beeinflusste die Katecholaminfreisetzung durch Tyramin nicht, hob jedoch die Spannungsentwicklung von Vorhof und Kammer auf, was sicher auf die Stimulation muskarinartiger

Rezeptoren an den Herzmuskelfasern selbst zurückzuführen ist.

Die bisher diskutierten Ergebnisse zeigen, daß die durch Tyramin erzielte Freisetzung von Noradrenalin und dem "falschen" Überträgerstoff α -Methyladrenalin an den terminalen Nervenfasern nicht von Calciumionen abhängig ist, außerdem nicht durch Methacholin beeinflusst wird. Dagegen führen Calcium-Entzug und Methacholin zu einer Verminderung der Katecholaminausschüttung durch Kaliumionen. Aus diesen Befunden läßt sich der Schluß ziehen, daß nur diejenigen Freisetzungsmechanismen, die auf einer Depolarisation beruhen und eng mit dem Eintritt von Calciumionen in das Axon verknüpft sind, einer muskarinischen Hemmbarkeit der Aminabgabe unterliegen. Mit diesen Ergebnissen liefert die vorliegende Arbeit eine weitere Bestätigung der Hypothese (Löffelholz und Muscholl, 1969; Malik und Ling, 1969), daß Calcium-abhängige Freisetzungsmechanismen für Katecholamine durch muskarinartige Substanzen blockiert werden können. Aufgrund elektrophysiologischer Befunde (Haeusler et al., 1968) und pharmakologischer Ergebnisse mit de- und hyperpolarisierenden muskarinischen Agonisten (Fozard und Muscholl, 1972) wird die Ansicht vertreten, daß Methacholin und ähnlich wirkende Substanzen eine Hyperpolarisation der Axonmembran hervorrufen, welche die Depolarisation durch sympathische Nervenreizung, nikotinartige Substanzen und Kaliumionen verhindern. Die morphologische oder chemische Charakterisierung der muskarinartigen Rezeptoren könnte auch der Erforschung der Funktion von Calciumionen bei diesem Hemmechanismus dienen. Darin wäre auch eine Möglichkeit zu sehen, manche noch unklare Funktion des Calciums bei elektrophysiologischen Vorgängen weiter aufzuklären.

E. Zusammenfassung

Die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen hatten zur Aufgabe, den Einfluß von Calcium-Entzug und Methacholin auf die Freisetzung von Noradrenalin und dem "falschen" Überträgerstoff α -Methyladrenalin (Dihydroxyephedrin) durch das indirekt sympathomimetisch wirkende Amin Tyramin und durch Kaliumionen zu prüfen. Ferner wurden die funktionellen Auswirkungen der Katecholaminfreisetzung auf die Herztätigkeit und der Koronarperfusionsdruck in seiner Abhängigkeit von den verschiedenen zur Perfusion der isolierten Kaninchenherzen verwendeten Substanzen untersucht.

Kaninchen erhielten eine 20 minütige intravenöse Dauerinfusion von $85 \mu\text{g/kg}$ u. min Dihydroxyephedrin. 15 Minuten nach Infusionsende wurden die Tiere entblutet und die Herzen isoliert nach Langendorff perfundiert. Die systolische Spannungsentwicklung von rechtem Vorhof und Ventrikel wurde registriert. Während der Perfusion der Herzen mit dem konstanten Volumen von 20 ml/min wurde der Koronarperfusionsdruck gemessen. Die Freisetzung von Katecholaminen in die Perfusate wurde nach Perfusion von Tyramin ($5 \mu\text{g/ml}$) oder Kalium-reicher Lösung (54 mÄq/l) entweder bei normaler ($3,6 \text{ mÄq/l}$) oder verminderter Calcium-Konzentration ($0,2 \text{ mÄq/l}$) gemessen. Ferner wurde der Einfluß von Methacholin ($4 \times 10^{-5} \text{ M}$) und Atropin ($1,44 \times 10^{-6} \text{ M}$) auf die Aminfreisetzung durch Tyramin und Kalium-reiche Tyrodelösung bestimmt.

Die durch Tyramin erzielte Freisetzung von Noradrenalin und α -Methyladrenalin wurde durch Calcium-Entzug und Methacholin nicht

beeinflusst. Tyramin setzte überwiegend den "falschen" Transmitter in die Perfusate frei, der die beobachteten positiv ino- und chronotrope Wirkungen vermittelte. In Anwesenheit von Methacholin und durch Calcium-Entzug kam es in einigen Fällen zum Stillstand des Herzens, in anderen zur Ausbildung sporadischer Kontraktionen. Der Koronarperfusionsdruck blieb während Tyramin unbeeinflusst durch gleichzeitigen Calcium-Entzug oder Methacholin-Zusatz.

Kalium-reiche Lösung setzte Noradrenalin und α -Methyladrenalin in dem Verhältnis in die Perfusate frei, in dem beide Amine nach Beendigung der Perfusion im Herzen enthalten waren. Sowohl die Verminderung der extrazellulären Calcium-Konzentration als auch der Zusatz von Methacholin senkten die Katecholaminabgabe durch Kalium signifikant. Atropin antagonisierte die Wirkung von Methacholin vollständig.

Die Erhöhung der extrazellulären Kaliumkonzentration auf 54 mÄq/l führte neben dem Herzstillstand zu einer steilen Zunahme des Koronarperfusionsdruckes infolge Konstriktion der Koronargefäße, die bei gleichzeitigem Calcium-Entzug abgeschwächt war.

Die Freisetzung von α -Methyladrenalin, einem "falschen" Transmitter, durch Tyramin ist nicht Calcium-abhängig und unterliegt keiner muskarinischen Hemmbarkeit, die durch Kaliumionen zeigt eine Abhängigkeit von Calcium und wird durch Methacholin gehemmt. Daraus kann geschlossen werden, daß der muskarinische Hemmechanismus nur bei Freisetzungsarten von Aminen, die extrazellulären Calciums bedürfen, nachweisbar ist.

F. Literatur

Allen, G. S., Glover, A. B., Rand, M. J. and D. F. Story:

Effects of acetylcholine on vasoconstriction and release of ^3H -noradrenaline in response to sympathetic nerve stimulation in the isolated artery of the rabbit ear.

Brit. J. Pharmacol. 46 (1972), 527-528

Beckett, P. R.:

The isolated perfused heart preparation: two suggested improvements.

J. Pharm. Pharmacol. 22 (1970), 818-822

Dubey, R. M. and E. Muscholl:

Muscarinic inhibition of noradrenaline release evoked by potassium ions.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 277 (1973), suppl. R 1:

Eccles, R. M. and B. Libet:

Origin and blockade of the synaptic responses of curarised sympathetic ganglia.

J. Physiol., London 157 (1961), 484-503

Euler, U. S. von and J. Orwén:

Preparation of extracts of urine and organs for estimation of free and conjugated noradrenaline and adrenaline.

Acta Physiol. Scand. 33 (1955), suppl. 118, 1-9

Fozard, J. R. and E. Muscholl:

A useful muscarinic parameter and the differential recording of atrial and ventricular tension in the perfused rabbit heart.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 270 (1971), 319-325

Fozard, J. R. and E. Muscholl:

Effects of several muscarinic agonists on cardiac performance and the release of noradrenaline from sympathetic nerves of the perfused rabbit heart.

Brit. J. Pharmacol. 45 (1972), 616-626

Fuder, H.:

Der Einfluß von Calcium-Entzug und Methacholin auf die Freisetzung des "falschen" Transmitters α -Methyladrenalin aus dem isolierten Kaninchenherzen durch sympathische Nervenreizung und eine nikotinartige Substanz.
Med. Diss. aus dem Pharmakologischen Institut Mainz
(in Vorbereitung)

Haeusler, G., Thoenen, H., Haefely, W. and A. Hürliemann:

Electrical events in cardiac adrenergic nerves and noradrenaline release from the heart induced by acetylcholine and KCl.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. exp. Path. 261
(1968), 389-411

Hukovic, S. und E. Muscholl:

Die Noradrenalin-Abgabe aus dem isolierten Kaninchenherzen bei sympathischer Nervenreizung und ihre pharmakologische Beeinflussung.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmakol. 244
(1962), 81-96

Kirpekar, S. M. and Y. Misu:

Release of noradrenaline by splenic nerve stimulation and its dependence on calcium.

J. Physiol., London 188 (1967), 219-234

Kirpekar, S. M. and A. R. Wakade:

Release of noradrenaline from the cat spleen by potassium.

J. Physiol., London 194 (1968), 595-608

Kirpekar, S. M., Prat, J. C., Puig, M. and A. R. Wakade:

Modification of the evoked release of noradrenaline from the perfused cat spleen by various ions and agents.

J. Physiol., London 221 (1972), 601-615

Kopin, I, J.:

False adrenergic transmitters.

Ann. Rev. Pharmacol. 8 (1968), 377-394

Kosterlitz, H. W., Lees, G. M. and D. I. Wallis:

Resting and action potentials recorded by the sucrose gap-method in the superior cervical ganglion of the rabbit.

J. Physiol., London 195 (1968), 39-53

Libet, B.:

Long latent periods and further analysis of slow synaptic responses in sympathetic ganglia.

J. Neurophysiol. 30 (1967), 494-514

Libet, B. and T. Tosaka:

Slow inhibitory and excitatory postsynaptic responses in single cells of mammalian sympathetic ganglia.

J. Neurophysiol. 32 (1969), 43-50

Lindmar, R. und E. Muscholl:

Die Wirkung von Cocain, Guanethidin, Reserpin, Hexamethonium, Tetracain und Psicain auf die Noradrenalin-Freisetzung aus dem Herzen.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol. 242 (1961), 214-217

Lindmar, R. und E. Muscholl:

Die Wirkung von Pharmaka auf die Elimination von Noradrenalin aus der Perfusionsflüssigkeit und die Noradrenalinaufnahme in das isolierte Herz.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol. 247 (1964), 469-492

Lindmar, R., Löffelholz, K. und E. Muscholl:

Unterschiede zwischen Tyramin und Dimethylphenylpiperazin in der Calcium-Abhängigkeit und im zeitlichen Verlauf der Noradrenalin-Freisetzung am isolierten Kaninchenherzen.

Experientia 23 (1967), 933-934

Lindmar, R., Löffelholz, K. und E. Muscholl:

A muscarinic mechanism inhibiting the release of noradrenaline from peripheral adrenergic nerve fibres by nicotinic agents.

Brit. J. Pharmacol. 32 (1968), 280-294

Lindmar, R., Muscholl, E. und E. Sprenger:

Funktionelle Bedeutung der Freisetzung von Dihydroxyephedrin und Dihydroxypseudoephedrin als falschen sympathischen Überträgerstoffen am Herzen.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 256 (1967), 1-25

Löffelholz, K. and E. Muscholl:

A muscarinic inhibition of noradrenaline release evoked by postganglionic sympathetic nerve stimulation.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 265 (1969), 1-15

Malik, K. U. and G. M. Ling:

Modification by acetylcholine of response of rat mesenteric arteries to sympathetic stimulation.

Circulat. Res. 25 (1969), 1-9

Morrison, D. F.:

Multivariate Statistical Methods.

McGraw-Hill Book Company, New York (1967), 186 ff.

Muscholl, E.:

Release of catecholamines from the heart. In: Mechanisms of Release of Biogenic Amines, pp. 247-260, ed. by U. S. von Euler, S. Rosell and B. Uvnäs. Oxford: Pergamon Press (1966)

Muscholl, E.:

Adrenergic false transmitters.

Handb. exp. Pharmacol. 33 (1972), 618-660

Muscholl, E.:

Muscarinic inhibition of the norepinephrine release from peripheral sympathetic fibres.

Proc. 5th Int. Cong. Pharmacology 4 (1973), 440-457

Muscholl, E. und E. Sprenger:

Vergleichende Untersuchung der Blutdruckwirkung, Aufnahme und Speicherung von Dihydroxyephedrin (α -Methyladrenalin) und Dihydroxypseudoephedrin.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 254 (1966), 109-124

Snedecor, G. W.:

Statistical methods applied to experiments in
agriculture and biology.

Iowa State College Press 4th Edt. (1950)

Steinsland, O. S., Furchgott, R. F. and S. M. Kirpekar:

Inhibition of adrenergic neurotransmission by para-
sympathomimetics in the rabbit ear artery.

J. Pharmacol. exp. Ther. 184 (1973), 346-356

Thoenen, H., Huerlimann, A. and W. Haefely:

Cation dependence of noradrenaline-releasing action
of tyramine.

Europ. J. Pharmacol. 6 (1969), 29-37

Herrn Professor Dr. E. Muscholl möchte ich meinen aufrichtigen Dank für die freundliche Überlassung des Themas dieser Dissertation sowie für seine hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit aussprechen.

Herrn Professor Dr. K. Löffelholz danke ich vielmals für die Übernahme des Korreferats. Für die gute Beratung bei statistischen Problemen dieser Arbeit danke ich Herrn Dr. Scheidt sehr herzlich. Zuletzt gilt mein Dank Fräulein Hering für ihre tatkräftige und gute Mitarbeit bei den durchgeführten Laboruntersuchungen.

Lebenslauf

Am 21. 3. 1950 wurde ich, Reinhard Wegwart, als Sohn des Kaufmanns Alois Wegwart und seiner Ehefrau Meinhilde, geb. Prediger in Bernburg/Saale geboren. Meine Kindheit verbrachte ich vor der Übersiedlung in die Bundesrepublik Deutschland im Frühjahr 1956 in Bernburg und Wernigerode.

Im April 1957 wurde ich in die Christliche Gemeinschaftsschule in Balingen eingeschult und absolvierte dort meine vierjährige Grundschulzeit. Nach Bestehen der Aufnahmeprüfung an das Theodor Heuß-Gymnasium in Heilbronn im April 1961 besuchte ich dieses ein Jahr. Danach wechselte ich an das Karl Friedrich-Gymnasium in Mannheim und legte dort meine Reifeprüfung im Juli 1969 ab. Im April 1970 nahm ich mein Medizinstudium an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz auf. Dort bestand ich im Frühjahr 1971 meine Vorphysikums- und im Oktober 1972 meine Physikumsprüfungen. Im Februar 1973 nahm ich die Arbeiten an meiner Dissertation am Pharmakologischen Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz auf. Zum Sommersemester 1974 wechselte ich an das Klinikum Mannheim der Universität Heidelberg, an dem ich auch mein Staatsexamen in Medizin im Sommer 1975 abzulegen beabsichtige.

Im Februar 1974 heiratete ich Fräulein Brigitte Götz, die als Studienreferendarin am Elisabeth-Gymnasium in Mannheim tätig ist.

Einleitung

Die vorliegende Arbeit ist eine Darstellung der Geschichte der deutschen Literatur von der Mitte des 18. Jahrhunderts bis zur Gegenwart. Sie ist in drei Teile gegliedert: der erste Teil behandelt die Zeit von 1750 bis 1800, der zweite Teil die Zeit von 1800 bis 1850, der dritte Teil die Zeit von 1850 bis zur Gegenwart. In jedem Teil sind die wichtigsten Autoren und Werke dargestellt, und die Entwicklung der Literatur wird skizziert. Die Arbeit ist für Studierende der Germanistik und für alle, die sich für die deutsche Literatur interessieren, geeignet.

